Aus dem Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Heinz Weichardt

DIE SAUERSTOFFVERSORGUNG DES HIRNGEWEBES UNTER KOHLENMONOXIDEINFLUSS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Susanne Rütz
aus Reutlingen

1974

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Heinz Weichardt

DIE SAUERSTOFFVERSORGUNG DES HIRNGEWEBES UNTER KOHLENMONOXIDEINFLUSS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Susanne Rütz
aus Reutlingen

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. W. Schlote
Berichterstatter:	Professor Dr. H. Weichardt
1. Korreferent:	Professor Dr. E. Betz
2. Korreferent:	Professor Dr. M. Sieß

Herrn Professor Dr. med. H. Weichardt, der mir das Thema dieser Arbeit überlassen hat, danke ich dafür.

Ebenso danke ich Herrn Medizinaldirektor Dr. med. H. Zorn für die vielseitige und weitreichende Unterstützung meiner Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. D. W. Lübbers und Herrn H. Baumgärtl, Dortmund, Max-Planck-Institut für Arbeitsphysiologie, danke ich für viele wertvolle Anregungen und Ratschläge.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	Einführung	1
2	Fragestellung	6
3	Methodik	7
	3.0 Messung des Sauerstoffpartialdruckes in der Vena jugularis unter CO-Exposition	7
	3.1 Die physikalisch-chemischen Grundlagen der Polarographie	9
	3.2 Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes durch Polarographie	10
	3.3 Die Entwicklung der Mikroelektroden	13
	3.4 Die Herstellung der Mikroelektroden nach Lübbers	16
	3.5 CO-Hb Bestimmung im Blut	19
	3.6 Methode nach Zorn	20
	3.7 Die Eichung der Mikroelektroden	21
4	Ergebnis	26
	4.1 1. Versuchsgruppe mit Versuchsbeschreibungen	26
	4.2 2. Versuchsgruppe mit Versuchsbeschreibungen	30
	4.3 3. Versuchsgruppe (Blindwert)	33
	4.4 4. Versuchsgruppe mit Versuchsbeschreibungen	34
5	Diskussion	41
6	Tabellen	53
7	Zusammenfassung	56
8	Literaturverzeichnis	58

1 EINFÜHRUNG

Obwohl der Mensch seit er es gelernt hatte, Feuer anzuzünden in Berührung mit dem Kohlenmonoxyd war, und sicher im Laufe der Jahrhunderte viele Vergiftungen, deren Ursache nicht erkannt wurde, dem CO angelastet werden dürften, dauerte es bis zum Jahr 1799 daß das CO von Priestley (15) entdeckt wurde. Und erstmals im Jahr 1842 schrieb Leblanc, Vergiftungen, die bei der Verbrennung von Kohle auftraten, dem dabei entstehenden, farblosen und geruchlosen, die Atemwege nicht reizenden Gas (74), dem CO zu. Im Jahr 1860 entdeckte Claude Bernard (94), daß sich CO in Konkurrenz mit Sauerstoff an Hb band, und daß das so entstandene Carboxy Hb sehr viel stabiler war als das Oxy Hb.

Damit hatte er auch schon den entscheidenden Wirkungsmechanismus bei der CO-Vergiftung erkannt, der nach der Formel $HbO_2 + CO = HbCO + O_2$ abläuft und darin besteht, daß der Sauerstoffträger in den Erythrozyten in dem Maß, wie die CO-Konzentration zunimmt, weniger O_2 transportiert und damit eine Hypoxie im Extra- und Intrazellulärraum verursacht.

Das Ausmaß der COHb-Bildung ist allein abhängig vom PCO in der Einatemluft und der Affinitätskonstanten M (71). Die Reaktion verläuft nach der Formel von Haldane (38)(58): $\frac{HbCO}{HbO_2} = \frac{M \cdot PCO}{PO_2}$. Erschwerend kommt hinzu, daß das CO mit einer Dichte von 0,978 (15) annähernd dieselbe Diffusionsfähigkeit wie Luft besitzt, daß es aber eine um das 245fache (42) größere Affinität zum Hb hat, als O_2. Andere von diesem Wert differente Angaben für die Affinitätskonstante (16)(50)(64)(78)(105) dürften bei mehreren Autoren durch die Bestimmung der Affinitätskonstante bei verschiedenen pH-Werten, bei anderen Autoren durch die Anwendung einer fehleranfälligen Methode bedingt sein. Als wesentlicher weiterer Wirkungsmechanismus, der sich nachteilig auf die Sauerstoffversorgung des Gewebes auswirkt, erkannte Haldane die Linksverschiebung (95)(111) der O_2 Dissoziationskurve bei steigenden COHb-Konzentrationen im Blut. Warburg (129) fand, daß sich CO mit dem Eisen der Cytochromoxydasen verbindet und damit die Zellatmung blockiert.

Er stellte jedoch diesen Effekt bei so hohen Konzentrationen in vitro fest, daß in vivo längst vorher schon andere Schädigungsmechanismen zum Tod des Individiums geführt haben. Neuerdings wurde jedoch von verschiedenen Autoren (23)(41) auf eine Schädigung des Cytochroms P 450 bei niedrigen CO-Konzentrationen durch Bindung des CO an das Enzym und durch Verdrängung des O_2 hingewiesen.

Die Hypoxie wie sie bei der CO-Vergiftung entsteht unterscheidet sich von arteriellen Hypoxien, wie sie bei obstruktiven und restriktiven Lungenerkrankungen, bei bestehenden Herzkreislaufleiden oder beim Aufenthalt in großen Höhen entstehen. Während bei diesen Erkrankungen der verminderte Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Gefäßgebiet über die Meßfühler der Chemorezeptoren (25)(30)(31)(39) eine Kompensation durch Erhöhung des Atemvolumens und des Herzzeitvolumens auslöst, wird bei der überwiegend venösen Hypoxie (92) der CO-Vergiftung kein Kompensationsmechanismus ausgelöst. Eine Hyperventilation wird von den meisten Autoren (106)(131)(132) wegen des gleichbleibenden arteriellen PO_2 abgelehnt. Nur Norman (91) stellt bei einer Beatmung mit 3700 ppm CO eine Hyperventilation fest. Pettinati (98) und Ayres (5) beschreiben eine Erhöhung des Herzzeitvolumens bei COHb-Werten zwischen 5 und 10%, Root (106) eine Erhöhung des cerebralen Blutdurchflusses und Prokop (102) eine Erweiterung der Hirngefäße unter CO-Einfluß. Die von diesen Autoren beobachteten Veränderungen an Atmung und Kreislauf wurden bei so hohen CO-Konzentrationen gemessen, daß sie als sekundäre Hypoxieeffekte (durch Veränderung des pH-Wertes, des Kohlendioxidpartialdruckes) zu deuten sind und nur unter bestimmten Sonderfällen hochtoxischer CO-Konzentrationen auftreten.

Die ebenfalls venöse Hypoxie der Anämie erreicht bis zu sehr erheblichem Ausmaß eine Kompensation der Hypoxie durch eine Rechtsverschiebung der HbO_2-Dissoziationskurve. Durch diese Rechtsverschiebung der O_2-Dissoziationsfunktion wird die Kurve in ihrem unteren Anteil flacher und damit die Sauerstoffabgabe ins Gewebe erleichtert. Im Gegensatz dazu bewirkt das CO eine Linksverschiebung der Kurve und behindert die Abgabe der schon ge-

ringen Menge des antransportierten O_2. So verursacht schon ein CO-Hb Wert von 10% einen kritischen Sauerstoffpartialdruck des Gehirns, wie Forster (46) auf Grund verschiedener Untersuchungen zusammenfassend feststellt.

Die Schwere der Vergiftung hängt von der CO-Sättigung des Hb (45)(59), von der Dauer der CO-Exposition und von der Sauerstoffmangeltoleranz der Organe ab. Es ist deshalb leicht verständlich, daß alle Organe und alle Individuen, die unter Ruhebedingungen an der kritischen Grenze (44) der Sauerstoffversorgung liegen, von einem Anstieg des normalen, endogenen COHb-Gehalts (27) von 0,5% besonders schwer betroffen sind. Dazu gehören alle, die unter einer Anämie, einer Hämoglobinopathie, einer partiellen oder globalen Lungeninsuffizienz oder an Herz-Kreislaufschäden leiden. Zu den besonders gefährdeten Geweben gehört das fetale Gewebe, das von vorn herein auf eine nach links verschobene O_2-Dissoziationskurve (115) "eingestellt" ist, sowie das Myocard und das ZNS, die ihren Energiebedarf fast ausschließlich aus der aeroben Glykose decken. Nach Untersuchungen von Diemer (35) (36) besteht im Gehirn eine enge Beziehung zwischen dem Sauerstoffverbrauch und der Kapillarisierung des entsprechenden Gehirnbezirks. Demnach treten die häufigsten hypoxischen Schäden des Gehirns im Bereich des Striatums auf (28a), das einen relativ hohen Sauerstoffverbrauch mit einer guten Kapillarisierung verbindet (84a). Parallel gehen Schädigungen des Myocards (2) (67) (69) (90) in Form disseminierter Einzelnekrosen.

Bei diesen Beobachtungen handelt es sich um Folgeerscheinungen hoher CO-Konzentrationen mit COHb-Werten von 50-70%, während sich etwaige pathologisch anatomische Veränderungen am menschlichen Gewebe, bei niedrigen COHb-Werten, wegen des nicht letalen Ausgangs unserer genauen Beobachtung entziehen. Schwere Vergiftungen mit CO sind zur Hälfte (15) auf Unfälle mit Leuchtgas, zur anderen Hälfte auf Suicid mit Stadtgas zurückzuführen. Berufliche CO-Exposition, die versicherungsrechtlich als Berufskrankheit (Listen Nr. 19) erfaßt wird, durch undichte Rohrleitungen (auch im häuslichen Bereich), durch Explosionen, unvollständige Verbrennungen von kohlenstoffhaltigen Verbindungen sind weniger häufig. Meist treten sie als einmalige Exposition gegenüber hohen CO-Konzentrationen auf und führen meist zu reversiblen Schäden.

Ein weit verbreitetes Problem ist heute die Frage nach Schädigungen, wie sie bei der längerdauernden Einatmung (1) von niedrigen CO-Konzentrationen entstehen. Solche CO-Einwirkungen werden nach der Einteilung der Symptome (96) der CO-Intoxikationen der chronischen CO-Vergiftung zugeordnet, die nach einmaliger Exposition keine wahrnehmbaren Erscheinungen macht, die jedoch bei mehrfacher gleichartiger Exposition zur Polyneuritis (97) (128), Hyperthyreose, Potenz- und Schlafstörungen, verminderter Leistungsfähigkeit und Intelligenzabbau führen soll. Im Grund genommen ist die einzelne unterschwellige CO-Intoxikation nicht absolut symptomlos (6) (9). Durch psychointellektuelle und psychomotorische Teste (53) können Funktionsminderungen erfaßt und Störungen in der EEG-Funktion berechnet werden. Im Tierversuch wurde festgestellt, daß CO-Konzentrationen von 100-200 ppm eine im EEG nachweisbare Depression des REM-Anteils am Gesamtschlaf zur Folge (43) hatten, daß die Schwimmleistung (88) von Ratten eingeschränkt wurde und die bedingten Reflexe (87) "vergessen wurden, daß die Lernfähigkeit von Ratten (134) gemindert wurde und weitere Reflexe, wie z.B. der Blinzelreflex (121) ausfielen. CO-Konzentrationen in der Größenordnung der maximalen Arbeitsplatzkonzentration (MAK = 50 ppm) kann man heute an den mannigfaltigsten Stellen (135) finden: An Arbeitsplätzen in der klassischen Stadtgas erzeugenden Industrie, in Kfz-Werkstätten, Tiefgaragen, Tunnels, in Eisengießereien, Laboratorien, in Heizwerken und an vielen Stellen behelfsmäßiger Heizungen bei Neubauten und in industrieller Kleinfertigung.

Neben SO_2 gehört CO zu den wesentlichsten Faktoren der Luftverunreinigung. In vielen Städten wird die Hälfte dieses CO-Anteils von den Kraftfahrzeugen produziert. Bei manchem Otto-Motor ist ein CO-Anteil von 7-12 % in den Auspuffgasen keine Seltenheit. Im Durchschnitt erzeugt jedes Auto bei einer Fahrgeschwindigkeit von 40Km/Std. 1/6 Pfund CO/Std. (50). An der zweiten Stelle der CO-Emittenten stehen in der kalten Jahreszeit in den Städten die Einzelheizungen, die mit fossilen Brennstoffen betrieben werden.

In Wohnungen, Arbeitsräumen und Verkehrsmitteln ist eine weitere wichtige CO-Quelle zu beachten: Der CO-Gehalt im Tabakrauch kann bis zu 2 Vol%(34)

und in schlecht ventilierten Räumen schnell den MAK-Wert für CO erreichen.

Insgesamt stieg seit 1950 die CO-Konzentration in der Atmosphäre von der "biologischen Gleichgewichtskonstanten" von 0,1 ppm CO auf das 2-200fache an. Dieser Anstieg des CO fordert die Frage nach der für den Menschen auch bei Langzeitexposition über mehr als 24 Stunden unschädlichen CO-Konzentration in der Einatmungsluft. Während der MAK-Wert (MAK = Maximale Arbeitsplatz Konzentration) grundsätzlich von einer Expositionsdauer von maximal 8 Stunden beim "gesunden" Menschen ausgeht, muß der für die CO-Emittenten wichtige MIK-Wert (MIK = Maximale Imissions Konzentration) wesentlich längere Expositionszeiten bei kranken, sehr jungen und alten Menschen (113) berücksichtigen. Die Festlegung dieser Schwellenwerte, die nach bestimmter Expositionsdauer keine gesundheitlichen Schäden hinterlassen, ist auch mit umfangreichen Untersuchungen nur schwer möglich, weil bei Beobachtungen am Menschen und Versuchen am Tier häufig zusätzliche Parameter auftreten, die eine genaue Bestimmung des Grenzwertes der noch unschädlichen Konzentrationen behindern.

2 FRAGESTELLUNG

Nachdem bei der CO-Intoxikation zumindest der wesentliche Faktor der Vergiftung bekannt ist, kann für das CO ein Schwellenwert allein aus der Kenntnis physiologischer Daten der Gewebehypoxie gefunden werden, wenn die jeweilige, in dem interessierenden Organ durch bestimmte CO-Konzentrationen hervorgerufene Hypoxidose bekannt ist. Die Symptomatologie der unterschwelligen und der manifesten CO-Intoxikation weist auf das ZNS, als das am meisten betroffene Organ hin. In dieser Arbeit war daher zu prüfen, in welchem Maß der Sauerstoffpartialdruck an verschiedenen Stellen des Hirngewebes unter verschieden langdauernder Exposition gegenüber unterschiedlichen CO-Luftgemischen sich verändert.

3 METHODIK

3.01 Messung des Sauerstoffpartialdruckes in der Vena jugularis unter CO-Exposition

Die Bestimmung der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz zwischen den Arteriae carotides und der Arteria vertebralis einerseits und den Venae jugulares andererseits erlaubt nur einen ungenügenden Hinweis auf die aktuelle Sauerstoffversorgung des Gehirns. Zwar sind arteriovenöse Kurzschlüsse im streng anatomischen Sinn nicht bekannt (104a), dennoch kann sich nach Überlegungen von Forster (46) der gemischt venöse pO_2 des Blutes von dem durchschnittlichen pO_2 des zu dieser Vene gehörenden Gewebebezirks unterscheiden, wenn eine ungleichmäßige Durchströmung des Gewebes in Bezug auf den Sauerstoffverbrauch besteht, wie es bei einem anatomisch vorgebildeten "Shunt" oder bei einer Verminderung des funktionstüchtigen Hämoglobins durch CO-Hb Bildung der Fall sein soll.

Zur Zeit sind drei Methoden zur direkten Bestimmung der Sauerstoffversorgung des Gehirns mittels des Sauerstoffpartialdruckes möglich:

3.02 Eine von Chance (21)(22) angegebene Methode gibt über eine fluoreszenzspektroskopische Atemfermentanalyse über das NADH-System eine besonders bei niederen PO_2-Werten genaue Angabe der Sauerstoffversorgung des untersuchten Gewebes und kann bei einer Technik mit extremen Aufwand auch in vivo durchgeführt werden.

3.03 Die Möglichkeit polarographisch die Sauerstoffspannung zu messen ist das Bauprinzip zahlreicher Elektroden. Große Anwendung fand die Clark'sche Elektrode (26)(125), die mit einer Oberfläche von 1-30 mm^2 ableitet. Die unter 2 dargelegte Fragestellung wurde in diesem Institut von Strotbek (126) mit Clark-Elektroden als Oberflächenelektroden durchgeführt. Dabei wurde der Sauerstoffpartialdruck an der Gehirnoberfläche gemessen und zwar an 5 Punkten, die auf einer Gesamtmeßfläche von 5,75 mm^2 den Mittelwert der dort herrschenden Sauerstoffpartialdrucke ergab.

3.04 Im Gegensatz zur Messung an Oberflächen erlauben die Stichelektroden in einer umschriebenen Gewebekugel zu messen. Um ein Maximum an Genauigkeit und Empfindlichkeit bei der Messung zu erreichen, wurden Elektroden, entsprechend den von Lübbers (7)(49)(84) und Baumgärtl entwickelten Platinmikrostichelektroden, in den folgenden Untersuchungen verwendet. Die Messung erfolgte intrazellulär und extrazellulär in einem kugelförmigen Hirngewebebezirk von 4 µ (80). Der bei verschiedenen Versuchen an unterschiedlichen Stellen im Gehirn herrschende Sauerstoffpartialdruck wurde unter verschiedenen Konzentrationen von CO im eingeatmeten CO-Luftgemisch gemessen und durch Schreiber festgehalten. Die CO-Luftgemische wurden mit Wösthoff Pumpen hergestellt, der O_2 und CO_2 Gehalt kontrolliert, und die CO-Werte zwischen 1000 und 50 ppm gewählt. Die Expositionsdauer lag zwischen 1 und 3 Stunden. Die absolut gleichmäßige Verteilung des CO-Luftgemisches wurde 20 Minuten mit mehreren "Nase-Mund-nahen" Fühlern im CO Uras kontrolliert. Außerdem wurde am Ende des Versuches jeweils der COHb-Gehalt im Blut bestimmt und gemäß der Affinitätskonstanten zur CO-Konzentration in der Einatmungsluft in Abhängigkeit von der Expositionszeit in Relation gesetzt.

Die Phasen der CO-Intoxikation wurden vermieden, in denen eine Azidose mit sekundären Azidoseeffekten der Gehirndurchblutung und des Blutdruckes auftreten. Diese Phasen der CO-Intoxikation sind sowohl aus der Klinik (17) als auch im Detail aus den Versuchen des Institutes (126) mit Makroelektroden in der Größenordnung bekannt.

3.1 Die physikalisch-chemischen Grundlagen der Polarographie (40)(136)

Die Polarographie ist eine elektrochemische Methöde zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von mengenmäßig kleinen Bestandteilen einer Lösung. Die ursprüngliche polarographische Anordnung nach Heyrovsky (60) bestand aus einem Elektrolysiergefäß mit der zu bestimmenden Lösung und einem Zusatzelektrolyten (0,1 n NaCl) zur Erhöhung der Leitfähigkeit, einer praktisch unpolarisierbaren Referenzelektrode (meist einer Kalomelelektrode) als Anode und einer Quecksilbertropfelektrode (Meßelektrode) als Kathode. An diese Zelle wird über einen Akkumulator eine Spannung angelegt, die über ein Potentiometer kontinuierlich zu steigern ist. Ein im Stromkreis liegendes Galvanometer mißt den fliessenden Strom. Die Strom-Spannungskurve wird nun so bestimmt, daß über einen Schleifkontakt die angelegte Spannung gesteigert wird und der dazugehörige Stromanstieg gemessen wird. Dabei ergibt sich bei reinen Lösungen schwer reduzierbarer Elektrolyte ein ganz schwacher Anstieg der Stromstärke (charging current) mit der Spannung. Bei einer Spannung von -1,85V bis -1,9V kommt es dann jedoch zu einem plötzlichen steilen Anstieg des Stromes, was der elektrolytischen Fällung der Natrium-Ionen an der Kathode entspricht (Kathodenstrom). Einen entsprechenden steilen Anstieg des Stromes, allerdings in der entgegengesetzten Richtung, gibt es am Anfang der Kurve (bei positiven Spannungen). Hier entspricht der plötzliche steile Stromanstieg der Umwandlung des metallischen Quecksilbers in Quecksilberionen und der Reaktion der Ionen mit dem Säurerest des Elektrolyten (Anodenstrom). Gibt man nun in die Lösung leicht reduzierbare Ionen, z.B. Pb^{++}, so erfolgt ein Stromanstieg bei entsprechend kleinen Spannungen (z.B. bei 0,43V). Bei Anstieg dieser kleinen Spannung auf die Abscheidungsspannung erreicht der Strom ein Niveau = Grenzstrom, weil nicht mehr als alle auf die Kathode treffenden Ionen reduziert werden können. Dieser Vorgang ist diffusionskontrolliert (deshalb Grenzstrom = Diffusionsstrom). Solche steilen Anstiege des Kathodenstroms mit Ausbildung des dazugehörigen

Niveaus werden polarographische Wellen genannt. Die Spannung, bei der der Strom die Hälfte des Diffusionsstroms erreicht, heißt Halbwellenpotential und ist eine physikalische Konstante des jeweiligen Stoffes und bis auf wenige Ausnahmen unabhängig von der Konzentration des in der Lösung vorliegenden Stoffes, von der Temperatur und von den Eigenschaften der Elektrode. Die Höhe des Diffusionsstromes hängt jedoch nach der Ilkovic-Gleichung

1) $$I_D = 0{,}732\ Fz\ D^{1/2} c\ m^{2/3}\ t^{1/6}$$

von der Menge des abtropfenden Quecksilbers m, vom Diffusionskoeffizienten des Ions D, von der Abtropfzeit t und der molaren Konzentration des Ions c ab. Konstante Verhältnisse an der Elektrode vorausgesetzt, ergibt sich also eine Abhängigkeit des Diffusionsstromes von der Konzentration c des gelösten Ions, wenn außerdem die Temperatur des Elektrolyten konstant gehalten wird.

2) $$I_D = K' \cdot c \ .$$

Grundsätzlich können auch andere Elektrodenmetalle verwendet werden, da der Ionisationsfluß nur abhängig ist von den Eigenschaften der Lösung und dem elektrischen Strom. Die lineare Beziehung der obigen Gleichung

$$I_D = K' \cdot c$$

gilt für alle Elektrodentypen und erleichtert bei der Messung des Sauerstoffpartialdruckes in Lösungen oder Geweben durch Polarographie die Ablesung des P_{O_2}-Verlaufes.

3.2 Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes durch Polarographie

Bei der polarographischen Analyse des Sauerstoffpartialdruckes in Blut oder Gewebe wird eine Platinelektrode als Kathode und eine Referenzelektrode aus Silber-Silberchlorid oder Kalomel als Anode bevorzugt. Nach Kolthoff und

Lingane (49)(68) laufen bei dieser Messung folgende elektrochemische Vorgänge ab:

$$O_2 + 2\ H_2O + 2e^- = H_2O_2 + 2\ OH^-$$

$$H_2O_2 + 2e^- = 2\ OH^- + 2\ H+ = 2\ H_2O$$

Der an die negativ geladene Platinelektrode diffundierende Sauerstoff wird an ihrer Oberfläche durch Anlagerung von 2 Elektronen zu H_2O_2 und durch weitere 2 Elektronen zu Wasser reduziert. An der Elektrodenoberfläche wird also dauernd Sauerstoff verbraucht, der durch neu zu der Elektrode diffundierenden Sauerstoff ständig ersetzt wird. Dieser Diffusionsstrom des Sauerstoffs wird im polarographischen Meßkreis gemessen. Je mehr Sauerstoffmoleküle an der Elektrode reduziert werden, umso größer wird der Diffusionsstrom. Deswegen steigt dieser Strom mit der Erhöhung der angelegten Spannung an und zwar solange, bis jedes an der Platinoberfläche der Elektrode ankommende Sauerstoffmolekül sofort reduziert wird. Damit ist der "Diffusionsgrenzstrom" erreicht, der unabhängig ist von einer weiteren Steigerung der Spannung. Dieser Diffusionsgrenzstrom ist nur noch abhängig von der aus der Umgebung pro Zeiteinheit nachdiffundierenden Zahl der Sauerstoffmoleküle. Bei gleichbleibender Temperatur ist dieser Diffusionsstrom allein und direkt abhängig von dem Sauerstoffpartialdruck in dem zu messenden Medium, da die Menge der zur Elektrode diffundierenden Sauerstoffmoleküle nur abhängig ist von der Differenz zwischen dem Sauerstoffpartialdruck an der Elektrodenoberfläche und dem in der Lösung oder dem Gewebe.

Der Diffusionsgrenzstrom, der sich im Polarogramm als Plateaubildung ausdrückt, liegt für Sauerstoff zwischen 0,5 und 0,7V (Polarisationsspannung). Bei weiterer Erhöhung der Spannung, etwa ab 0,9V, kommt es dann wieder zu einem ganz steilen Anstieg des Stromes, weil nun noch weitere Elektrolysevorgänge ablaufen.

Bei polarographischer Messung in Lösungen mit verschiedenen Sauerstoffpartialdrucken bestimmt lediglich der Sauerstoffgehalt die Messung: die polarogra-

phischen Stufen liegen immer im selben Spannungsbereich und die Höhe des Diffusionsgrenzstromes ist proportional den Sauerstoffpartialdrucken. Daher kann die lineare Eichkurve jeweils bestimmt werden, indem man die Höhe der Diffusionsgrenzströme gegen die Sauerstoffkonzentration in % abträgt.

Die Steilheit der Eichkurve, also die pro Änderung der Sauerstoffkonzentration sich ergebende Stromänderung, ist ein gutes Kriterium für die Qualität der Elektrode. Da die bei der Polarographie ablaufenden Vorgänge diffusionskontrolliert sind, haben Lösungen mit gleicher Sauerstoffkonzentration aber unterschiedlichen Diffusionskoeffizienten für Sauerstoff verschieden steile Eichkurven. Es ist deshalb wichtig, daß durch kräftiges Rühren oder eine andere Bewegung in der zu messenden Lösung eine absolut konstante Diffusion des Sauerstoffs zur Elektrodenoberfläche möglich ist.

Eine mathematische Erfassung der Verteilung des Sauerstoffs in der Umgebung der Platinkathode während der polarographischen Messung im Moment der Polarisationsstufe, bei der jedes pro Zeiteinheit an die Elektrodenoberfläche diffundierende Sauerstoffmolekül reduziert wird, gelang Grunewald (56)(57). Im Anschluß daran gelang es Baumgärtl (8), diese postulierte Sauerstoffverteilung experimentell zu bestätigen, dadurch, daß er in einer Agarlösung mit Hilfe einer Platinmakroelektrode und eines polarographischen Meßkreises das Sauerstoffeld vor einer solchen Elektrode aufbaute und durch Einstechen von Mikroelektroden auf die Oberfläche der Makroelektrode zu, die an jeder Stelle anzutreffende Sauerstoffkonzentration maß. Es zeigte sich tatsächlich, daß die Diffusionsdichte der Sauerstoffmoleküle auf die Elektrode zu konzentrisch abnahm, wobei an der Oberfläche der Makroelektrode keine Sauerstoffmoleküle mehr nachzuweisen waren.

3.3 Die Entwicklung der Mikroelektroden

Die von Heyrovsky angegebene Quecksilbertropfelektrode hatte den Vorteil, daß bei der Polarographie jeweils eine gleich größe, immer neue Elektrodenoberfläche angeboten wurde. Bei feststehenden Elektroden dagegen nimmt der Diffusionsstrom in dem Maße ab, wie die Schicht der an der Elektrode reduzierten Moleküle zunimmt. Man benützte deshalb rotierende Platinelektroden, da bei der Rotation durch den Elektrolyten die Schicht auf den Elektroden verhältnismäßig dünn bleibt. Als Referenzelektrode, die praktisch unpolarisierbar ist, benützt man entweder eine Silber-Silberchloridelektrode oder eine Kalomelelektrode.

Nachdem viele Autoren, zuerst Danneel (32) aus der Arbeitsgruppe um Nernst die lineare Abhängigkeit des Sauerstoffpartialdruckes von dem polarographisch gemessenen Diffusionsstrom nachgewiesen hatte, wurden mit diesen Elektroden in den verschiedensten Geweben und Kulturen Sauerstoffpartialdrucke gemessen (18). Die ersten Messungen in tierischem Gewebe führten 1942 Davies und Brinks (33) durch. Sie hatten eine Elektrode entwickelt (recessed electrode) die in einer Glaskapillare einen 0,17 mm dicken Platindraht enthielt, der nur bis auf 1 mm an die Spitze der Glaskapillare reichte. Somit ergab sich an der Elektrodenspitze eine Höhlung in deren Tiefe die messende Platinoberfläche lag. Diese Elektroden zeigten im Polarogramm eine gute Plateaubildung, erforderten jedoch wegen der verhältnismäßig langen Ansprechzeit große Invervalle zwischen den einzelnen Messungen.

Eine Weiterentwicklung dieser Elektroden, die offenendenden Elektroden, waren so gebaut, daß eine Platinspitze, die entweder elektrolytisch erzeugt wurde oder durch mechanische Bearbeitung zustande kam, als messende Oberfläche die Glaskapillare überragte. Diese Form der Elektrode zeigte zwar im Polarogramm keine deutliche Ausbildung eines Niveaus, war jedoch wegen ihrer kurzen Ansprechzeit zur Messung schnell wechselnder Sauerstoffpartialdrucke geeignet.

Clark (26) gab ein Verfahren zur Herstellung einer Elektrode an, die seither als Clark-Elektrode (125) zu einer Standardelektrode bei der Messung von Sauerstoffpartialdrucken geworden ist. Sie wird in den verschiedensten Modifikationen und Dimensionen hergestellt, z.B. als Katheterelektrode (118), die intraarterielle PO_2-Messungen erlaubt. Die Clark-Elektrode besteht aus einem in eine Glashülse eingeschmolzenen Platindraht, die in einer Silberhülse (=Referenzelektrode) steckt. Die Meßspitze ist von einer Teflonmembran überzogen, die zwischen sich und der messenden Platinfläche eine Kammer mit KCl als Elektrolyten einschließt. Außerdem kann die Meßspitze noch von einer Zellophanschicht bedeckt sein. Diese Elektrode vereint mehrere günstige Faktoren: Durch die enge räumliche Beziehung zwischen Meß- und Referenzelektrode fließt durch das zu messende Medium kein Strom, so daß sich keine Fibrinauflagerungen auf der Meßelektrode bilden können (12)(130). Außerdem ist die Elektrode durch den Teflon- und Zellophanüberzug verhältnismäßig unempfindlich gegen Störungen, die durch Bewegung im zu messenden Medium auftreten. Andererseits wird aber durch diese Überzüge die Ansprechzeit verlängert. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß alle an eine solche Meßelektrode gestellten Forderungen nicht in optimaler Weise von einer bestimmten Form einer Elektrode erfüllt werden können. Eine kleine Meßspitze ermöglicht zwar das Vordringen in kleinste Gewebebereiche, es ist jedoch mit solchen Elektroden kein Polarogramm mit sicherer Plateaubildung zu erreichen, d.h. der Diffusionsstrom ist nicht, wie bei der idealen Polarographie (s. Gleichung 1, S. 10) unabhängig von der angelegten Spannung.

Ein Überzug der Elektrode mit Teflon, Zellophan oder Polystyrol vermindert zwar den Rühreffekt (= Differenz des Meßwertes in ruhiger mit der jeweiligen O_2-Konzentration aufgesättigte Lösung von dem in gerührter oder durchperlter Lösung) verlängert jedoch andererseits die Ansprechzeit auf wechselnde Sauerstoffpartialdrucke und verkleinert die Änderung des Diffusionsstromes in Abhängigkeit von der Änderung des Sauerstoffpartialdruckes, macht also letztlich die Elektrode unempfindlicher.

Eine enge räumliche Beziehung zwischen der Meßelektrode und der Silber-Silberchlorid Elektrode vermindert die Fibrinabscheidung (12)(130) an der Meßelektrode, führt aber andererseits zur Abscheidung von Silber an der Platinoberfläche der Meßelektrode. Dieser elektrolytische Vorgang kann jedoch durch Zwischenschalten einer semipermeablen Membran oder eines Stromschlüssels verhindert werden. Die günstigsten Bedingungen für eine chemisch inerte und mechanisch widerstandsfähige Elektrode würde eine Stahlelektrode aus V2A oder V4A, eventuell noch mit Gold beschichtet, bieten. Solche Elektroden wären wesentlich stabiler gegenüber Schwefelverbindungen (19) und elastischer als die in eine Glaskapillare eingeschmolzene Platinelektrode. Die polarographische Empfindlichkeit ist jedoch wesentlich geringer, gibt doch eine konstante Änderung des Sauerstoffpartialdruckes bei einer V4A-Elektrode nur ein Fünftel des Meßstromes gegenüber einer Goldelektrode und eine vergoldete Stahlelektrode nur 5/7 des Meßstromes einer Platinelektrode (19).

Trotzdem fertigten Davies (33), Cater und Silver (20)(123)(130) in dem Bestreben, immer kleinere Elektroden herzustellen, solche mit einer Meßspitze um 10 μ, derart, daß sie korrosionsfreie Stahlnadeln durch elektrolytische Ätzung anspritzten, sie dann galvanisch vergoldeten und sie dann bis auf die feine Meßspitze mit Araldit isolierten.

Bei der Entwicklung einer Elektrode, die im tierischen Gewebe messen soll, ist weiterhin zu fordern, daß der Eigenverbrauch der Elektrode an Sauerstoff nicht zu groß sein darf, da sonst die Messung selbst den Ablauf der physikalischen Vorgänge im Gewebe stört (55)(56)(61). Cater zeigte, daß bei einer Elektrode, die eine Meßspitze von 0,3 mm besitzt, der Sauerstoffverbrauch an der Elektrode 1,5% des Sauerstoffs beträgt, der zur Versorgung eines Gewebevolumens von 1 mm^3 nötig ist (19).

Eine von Silver (12)(122)(123)(130) angewandte Platinelektrode zur Messung im ultramikroskopischen Bereich wurde auf Grund von verfahrenstechnischen Untersuchungen über den Einfluß der Glaskapillare, der physikochemischen Zusammensetzung des Glases, der polarographischen Besonderheiten von der-

artigen Ultramikro-Elektroden von Lübbers (76)(84) und Baumgärtl (7) weiter verbessert. Diese Platinelektrode von Lübbers verbindet eine kleine Meßspitze (2-5 µ), die im Gewebe nur ganz geringe Verletzungen und Kompressionen erzeugt, mit einem geringen Rühreffekt (unter 5%) und hat dazu eine kleine Ansprechzeit (bei Änderung des Sauerstoffpartialdruckes um 100% zeigt der Meßausschlag nach einer Sek. 95-97% des Endausschlags an). Das aufgenommene Polarogramm hat eine meßtechnische ausreichende Plateaubildung bei einer angelegten Spannung von 0,6V. (Bei sehr kleiner (< 1,5µ)Meßspitze kann die Plateaubildung beim Polarogramm auch fehlen, was bei meßtechnisch gleich gebauten Elektroden die Meßangabe, insbesondere die relative Änderung der O_2-Partialdruckmessung, nicht beeinflußt.) Die Elektrode hat eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Sauerstoffpartialdruck und dem gemessenen Diffusionsgrenzstrom, wobei für eine Messung in einem stickstoffdurchströmten Medium der gemessene Strom nur wenig über Null liegt (0,05 nA Ampere), die Eichkurve für die Elektrode also annähernd durch den Nullpunkt geht. Der Diffusionsgrenzstrom beträgt pro Änderung des Sauerstoffpartialdruckes um 1 mm Hg 0,04-1nA (18). Der Eigenverbrauch der Elektrode an Sauerstoff beträgt durchschnittlich $8 \cdot 10^{-2}$ µl O_2/Min.

3.4 Die Herstellung der Mikroelektroden nach Lübbers

Die Herstellung der von Lübbers und Baumgärtl (7) angegebenen Mikroelektrode erfolgt in 3 Schritten: Ein Platindraht wird elektrolytisch auf eine kegelförmige Spitze von 1 µ geätzt, dann wird der Platindraht in eine spezielle Glaskapillare eingeschmolzen. Anschließend wird die Meßspitze mit einem Polystyrolüberzug versehen.

Ätzen der Elektroden:

Etwa 10 cm lange Stücke eines Platindrahtes (200 µ im Durchmesser, spektralrein - 99,999% = Heräus Hanau) werden in einen ausgehöhlten (Tiefe und

Durchmesser 35mm) und mit 8,5 molarer KCN gefüllten Graphitblock etwa 1 cm tief eingetaucht. Zwischen dem Graphitblock und dem Platindraht ist eine Gleichspannung angelegt, die zwischen 0 und 4 Volt kontinuierlich variiert werden kann. Die Grobätzung erfolgt bei 4 Volt und 0,6 A. In Abhängigkeit von dem Durchmesser des eingetauchten Platindrahtes bleibt der Strom längere Zeit konstant bis ein plötzlicher Abfall der Stromstärke eine Spitzenbildung am Platindraht anzeigt. Die Platinspitze hat dann ihre richtige Form und Dicke, wenn der Strom auf 40% seines Ausgangswertes abgefallen ist. Ein weiteres Belassen der Spitze in der Ätzlösung würde wieder zu einem Stumpfwerden der Elektrode führen. Anschließend werden die so geätzten Platindrähte mit Aqua bidest. gespült, mit rauchender Salzsäure gereinigt und anschließend nochmals mit Aqua bidest. gespült. Die Größe und Form der Platinspitze wird unter dem Mikroskop ausgemessen und kontrolliert. Im absoluten Äthanol können nun die Drähte bis zum Einschmelzen aufbewahrt werden.

Einschmelzen der Elektroden:

Aus Thermometerglas 16 III (Fa. Schott und Genossen) mit einer Dicke von 4mm, die zuvor im Ultraschallgerät gereinigt wurden, werden aus jeweils 10 cm langen Stücken über der Bunsenbrennerflamme 2 Kapillaren gezogen, in die dann die geätzten Platindrähte mit der Spitze voraus, eingefädelt werden. Sodann wird die Kapillare an ihrer lang ausgezogenen Spitze aufgehängt und am anderen Ende mit einem Gewicht von etwa 5g beschwert. In Höhe der Platinspitze wird eine Heizspirale (Chromnickeldraht Fe-frei Vacromium Co D-989, Vakuumschmelze Hanau) angebracht, in deren Zentrum die Kapillare frei hängt. Beim Anlegen einer Spannung von ca. 3V fließt im Heizdraht ein Strom von etwa 17 Ampere und läßt in der nächsten Umgebung des Heizdrahtes eine Temperatur von etwa 600-800°C entstehen, was der Schmelztemperatur vom Glas entspricht. Bei richtiger Höheneinstellung der Platinspitze zum Heizdraht und entsprechend langsamen Abfliessenlassen der umgebenden Glaskapillare, was durch ein Stereomikroskop beobachtet wird, legt sich eine Glashülle auf einer Länge von 0,5 cm unterhalb der Platinspitze eng an den Platindraht. Dann wird das Glas genau

an der Platinspitze abgeschmolzen, derart, daß eine 1-3µ große Platinspitze frei bleibt. Die so entstandene Elektrode wird unter dem Mikroskop nochmals kontrolliert. Dabei werden die Elektroden ausgesondert, bei denen der Platindraht selbst unterhalb der Spitze abgeschmolzen ist sowie jene Elektroden, bei denen sich das Glas nicht bis nahe an die Spitze um das Platin gelegt hat, so daß eine zu große, messende Platinoberfläche resultiert. Um einen etwaigen dünnsten Glasüberzug über der Meßspitze auszuschließen, wird die Elektrode zusammen mit einem Silberblech in eine schwache KCL-Lösung getaucht (Aqua bidest. dem ein Tropfen KCL zugegeben ist) und eine Spannung von 4,5V angelegt. Wenn dann ein Strom in der Größenordnung von 0,1 - 1 Mikro Ampere fließt, bedeutet das, daß Elektrode meßfähig ist.

Anschließend wird die Meßspitze etwa 1,5 cm tief senkrecht in eine 5%ige Polystyrollösung getaucht (Polystyrol glasklar 143 E, BASF Ludwigshafen gelöst in Tetrachlorkohlenstoff) und in aufrechter Stellung getrocknet. Anschließend muß die Elektrode etwa 8 Tage in Aqua bidest. aufbewahrt werden bis konstante Verhältnisse erreicht sind.

Herstellung der Bezugselektrode = Silber-Silberchloridelektrode

An einem 30-50mm langen Silberdraht mit einem Durchmesser von 1-2mm wird, während man ihn in eine Elektrolytlösung (5g KOH + 5g NaOH + 1g KCN auf 100ml H_2O) taucht, eine Minute lang eine Spannung von 5-10V angelegt (Silber als Kathode) und der Draht bei 50-100mA/qcm Gleichstrom gegen einen Platindraht als Anode elektrolysiert und durch diesen Vorgang gereinigt. Nach gründlicher Spülung mit Aqua bidest. wird der Silberdraht in eine 0,1n HCl gegeben und gegen eine Platinkathode 1,5V Gleichspannung angelegt. Die Elektrolyse erfolgt solange, bis der Widerstand der Silber-Silberchloridelektrode ca. 1 Kiloohm beträgt.

3.5 CO-Hb Bestimmung im Blut

Zum qualitativen und quantitativen Nachweis von CO-Hb im Blut stehen viele chemische und physikalische Methoden zur Verfügung (101). Qualitative Nachweise erlauben erst eine Aussage bei CO-Hb Werten über 15% und sind daher für die Aufgabenstellung dieser Arbeit ohne Bedeutung (51)(52). Die quantitativen CO-Hb Bestimmungen lassen sich in destruktive und nicht destruktive trennen.

Die destruktiven Methoden setzen sämtliches im Blut gebundenes CO frei und messen es volummetrisch (Roughton (110), Scholander (116)), mittels Infrarot (Rossmann (108) und Zorn (133)), mittels Gaschromatographie (direkt (13)(86) oder über CH_4-Oxydation (119)) oder mittels Massenspektrometrie. Die nicht destruktiven Methoden messen direkt das CO-Hb gemäß seiner spektralphotometrischen Eigenschaften. Die naheliegenden Spektrallinien des Oxy-Hb bzw. des reduzierten Hbs stören bei der von Hüfner eingeführten Extinktionsquotientenmessung des CO-Hb bei zwei verschiedenen Wellenlängen.

Weitere Methoden arbeiten mit der Quotientenmethode nach Reduktion bzw. Vollsättigung des nicht an CO gebundenen Hb.
Diese spektrophotometrischen Methoden sind durch querempfindliche Hb-Derivate, besonders durch Hämiglobin, mit einem Fehler belastet, der sich besonders in den niedrigen CO-Hb Werten extrem störend bemerkbar macht. Weiterhin gelingt die Reduktion des O_2Hb und Vollsättigung (29) zu Hb O_2 nur unvollständig.
Für die vorliegende Untersuchungsreihe wurde deswegen eine destruktive, gasanalytische Methode verwendet. In den im folgenden beschriebenen Versuchen wurde als Infrarotanalysator der Uras II der Firma Hartmann und Braun, und als Spektrophotometer der PMQ II der Firma Zeiss eingesetzt.

3.6 Methode nach Zorn

Bei der in dieser Arbeit angewendeten Methode nach Rossmann (108), modifiziert nach Zorn (133), wird eine Gassammelröhre mit einem Volumen von 575 ml mittels einer Vakuumpumpe mit einem Sog von 10^{-5} kp/cm^{2} evakuiert. Dann wird mit einer Duopette über eine an der Gassammelröhre angebrachte Schleuse 1ml des CO haltigen Bluts mit 10ml Aqua dest., 7ml Kaliumhexacyanoferrat und 7ml Milchsäure mit einigen Tropfen Oktylalkohol in die Gassammelröhre eingeschleust. In der evakuierten Gassammelröhre platzen die eingebrachten Erythrozyten und aus dem CO Hb wird durch das starke Reduktionsmittel $K_3Fe(CN)_6$ das gesamte CO freigesetzt.

Nach völliger Entgasung des Blut- und Reagenzgemisches wird mit reinem Stickstoff der Druck in der Gassammelröhre dem Außendruck gleichgesetzt. Dann wird das Gasgemisch mittels einer kaltgesättigten NaCl-Lösung, die selbst kein CO mehr aufnehmen kann, über eine Absorptionskette für CO_2 und H_2O Dampf in die Meßküvette eines Infrarotgasanalysators gefüllt. Die CO-Konzentration läßt sich gemäß der Eichkurve des Infrarotgerätes in vpm ablesen.

Für die Berechnung des CO-Hb Gehaltes ist es wichtig, den genauen Hb-Wert einer jeden Blutprobe zu kennen. Zu diesem Zweck wird da zu untersuchende Blut mittels einer Transformationslösung quantitativ in Cyanhämoglobin umgewandelt und bei einer Wellenlänge von 540 nm in einem Spektrophotometer gemessen.

Der CO-Hb Gehalt wird dann nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\text{Vol. Gasmaus (ml)} \times \frac{\text{CO Konz. (vpm)}}{\text{1ml Blut}} \times 100 \times \text{Korrekturfaktor}}{\text{eingesetzte Blutmenge (ml)} \times 10^{6} \times \text{g\% Hb}}$$

3.7 Die Eichung der Mikroelektroden

Vor jedem Tierversuch ist es nötig, ein Polarogramm und eine Eichkurve für die jeweilige Elektrode aufzustellen, da entsprechend der Einzelherstellung der Elektroden ihre Eigenschaften nicht völlig gleichartig sind.

Das Ziel des Eichvorgangs ist es, bei einer konstanten Temperatur von 37°C und bei Anlegen einer Spannung, die sich aus dem Polarogramm als Abscheidungsspannung ergibt, eine lineare Beziehung zwischen der Konzentration des Sauerstoffs in der Lösung und dem gemessenen Diffusionsgrenzstrom zu finden. Dieser Diffusionsstrom liegt bei Elektroden mit einer Spitze unter 5 m im Bereich von 0,5 - 5 nA. Die Eichkurve muß (s. unter 3.3) die Ordinate zwischen 0 und 0.05 nA schneiden, d.h. bei Messung in einer von reinem Stickstoff durchperlten Lösung soll der Reststrom nicht größer als 0,05 nA sein.

Als Eichgefäß diente uns ein nach Plänen von Lübbers gebautes Glasgefäß. Lübbers wies besonders auf die Notwendigkeit von Glasgefäßen bei genauen gasanalytischen Arbeiten hin, da wegen der verschieden starken Löslichkeit des Sauerstoffs im Plexiglas eine Gasanalyse in Plexiglasgefäßen, wie sie z.B. von Clark verwendet wurden, zu Verfälschungen der Ergebnisse führt. Der Glaszylinder vermeidet außerdem eine die Messung störende elektrostatische Aufladung. Das für unsere Eichzwecke gebaute Glasgefäß bestand aus einem Glaszylinder mit einem Durchmesser von 9 cm, in den oben und unten jeweils ein Glasstutzen zur Zu- und Ableitung der auf 37°C gehaltenen Thermostatenflüssigkeit eingelassen war. In diesem großen Zylinder befand sich ein kleiner Glaszylinder mit einem Durchmesser von 1 cm, der an der oberen Grundfläche des großen Behälters geöffnet war und bis fast an die untere Grundfläche des Gefäßes reichte. Dieser kleine Zylinder war während der Eichung mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, die, da sie allseits von thermostatisierter Flüssigkeit umgeben war, ebenfalls eine

Temperatur von 37°C hatte. In diesen Zylinder wurde die Elektrodenspitze während der Eichung getaucht. Einen cm oberhalb seines unteren Endes hatte dieser Zylinder eine Glasfritte G5 eingelassen. Dann verjüngte er sich, um an seinem unteren Ende in eine Glasröhre mit einem Durchmesser von 0,5 cm überzugehen, die sich in eine ebenfalls in der Thermostatenflüssigkeit hängende Glasspirale fortsetzte. Über einen Ansatzstutzen führte diese Glasspirale aus dem Eichgefäß heraus. Durch sie wurde das jeweilige Eichgas (reinster Stickstoff, 5 Vol % O_2 in N_2, 10 Vol % O_2 in N_2, und 20,9 Vol % O_2 in N_2) zugeführt, beim Gang durch die Spirale auf 37°C gebracht und dann durch die Glasfritte geleitet, so daß es in kleinsten Bläschen durch die physiologische Kochsalzlösung perlte. Die Verteilung des Gasgemisches war dadurch so homogen, daß sich ein besonderer Rührmechanismus zur Erzielung gleichmäßiger Diffusionsverhältnisse um die Elektrode, erübrigte. Um das Gasgemisch schon vor seinem Eintritt ins Eichgefäß mit Flüssigkeit aufzuladen und um den Aufbau eines zu starken Druckes vor der Glasfritte zu vermeiden, perlte das Eichgas schon außerhalb des Eichgefäßes durch eine Waschflasche, gefüllt mit physiologischer NaCl. In den kleinen Glaszylinder ragte neben der Elektrode, als Stromschlüssel noch ein Glas-U-Rohr, das mit einem in physiologischer NaCl gelösten Agar gefüllt war. Der andere Schenkel des U-Rohrs steckte in einem anderen Behälter, in dem sich in physiologischer NaCl die Silber-Silberchloridelektrode als Referenzelektrode befand. Als Eichgase wurden Mischgase der Fa. Messer-Griesheim mit Analysenzertifikat verwendet. Die Thermostatenflüssigkeit wurde von einem Thermostaten der Fa. Hellige auf 37°C gehalten und mittels einer Kreiselpumpe mit einer Leistung von 4 l/Min durch das Eichgefäß gepumpt. In Abständen von 10 Minuten wurde mit einem Präzisionsthermometer die Temperatur in der Eichflüssigkeit kontrolliert. Die Meßelektrode wurde entlang einer Führungsschiene derart in die Eichflüssigkeit eingetaucht, daß ihre Spitze etwa 1 cm hineinragt. An dem aus der Glaskapillare der Meßelektrode austretenden Platindraht wurde eine Kupferlitze angelötet, ebenso an die Referenzelektrode. Beide Drähte führten zu einem Subminaxstecker der Fa. Amphenol-Tuchel und von dort aus über ein

Coaxialkabel zum Meßgerät.

Bei den im Nanobereich befindlichen Meßströmen mußte zur Abschirmung von Störspannungen das Eichgefäß samt der Halterung für die Elektroden in einem Faradaykäfig untergebracht werden.

Als Meßgerät diente ein Stromspannungsmeßgerät der Fa. Transidyne General Corporation (Chemical Microsensor Model 1200). Es erlaubte in Schritten von 100 mV Polarisationsspannungen zwischen 0 V und 1 V anzulegen. Stromstärken konnten gemessen werden zwischen $1 \cdot 10^{-6}$ und $3 \cdot 10^{-12}$ Ampere. Die Genauigkeit betrug $\pm$ 2%, die Linearität $\pm$ 1%. Das Meßgerät konnte bei Netzspannung betrieben werden. Um jedoch von Störungen seitens des Netzes frei zu sein, erwies sich für die beschriebenen Versuche der Umbau des Gerätes auf eine konstante Gleichstromquelle als vorteilhaft.

Einer jeden Eichung hat die Aufnahme eines Polarogramms vorauszugehen, um die für diese Elektrode günstigste Polarisationsspannung zu ermitteln. Nach Erreichen der konstanten Temperatur im Eichgefäß und Aufsättigung der Eichflüssigkeit mit einem O_2-N_2 Gemisch, z.B. 5 Vol% O_2 in N_2, werden Meß- und Referenzelektrode eingetaucht. Man erlaubt dann der Elektrode bei Anlegen einer Spannung von 0,6V einen bestimmten Polarisationszustand zu erreichen. Nach etwa einer halben Stunde hat sich ein Niveau eingestellt, das tiefer liegen muß, als der anfängliche Meßwert (Drift der Elektrode nach unten). Eine Drift der Elektrode nach oben weist auf Verunreinigungen an der Elektrode hin. Nach Erreichung eines Niveaus werden dann bei gleichbleibender Sauerstoffkonzentration die Polarisationsspannungen in Schritten von 100 mV von 0 bis 1 V "durchfahren". Dabei ergibt sich eine Kurve mit stufenweisem Anstieg des Diffusionsstromes in Abhängigkeit von der angelegten Spannung. Wie unter 3.3 beschrieben kommt es bei dieser minimalen Meßspitze nicht zu einer sicheren Plateaubildung im Polarogramm, jedoch kann man feststellen, daß die Stufen $\frac{dI}{dU}$ zwischen 500 und 700 mV kleiner werden als bei kleineren oder größeren Spannungen.

Nun leitet man mitten in diesem Bereich der gewählten Polarisationsspannung (hier meist 0,6V) reinsten Stickstoff durch das Eichgefäß. Der dabei auftretende Reststrom sollte unter 0,1 nA liegen. Weiter werden dann 5% O_2 in N_2, 10% O_2 in N_2 und synthetische Luft durch das Eichgefäß geleitet und die jeweils auftretenden Ströme gemessen und in das Strom/Vol% O_2 Diagramm eingetragen. Dabei muß man zwischen dem Meßwert beim Durchleiten des Gases und dem Wert sofort nach Unterbrechen des Gasflusses, solange die Eichflüssigkeit noch mit dem jeweiligen Eichgas aufgesättigt ist, unterscheiden. Die Differenz zwischen diesen beiden Werten wird als Rühreffekt bezeichnet und sollte bei einem guten Polystyrolüberzug der Elektrode kleiner als 5% des Gesamtausschlages sein. Bei einem zu großen Rühreffekt kann versucht werden, durch einen neuen Polystyrolüberzug die Eigenschaften der Elektrode zu verbessern.

Für die Aufstellung der Eichkurve sind nur die Werte des Diffusionsstromes von Bedeutung, die sofort nach dem Ende der Gasdurchleitung gemessen werden, also die "ungerührten Werte". Ist die Eichkurve linear und geht sie annähernd durch den Nullpunkt, so kann mit dieser Elektrode im Gewebe gemessen werden.

Übertragung der Werte der Eichkurve der physiologischen Kochsalzlösung auf verschiedene O_2 haltige Gewebsflüssigkeiten.

Schon früh ist bei der Entwicklung und Eichung die Frage aufgetaucht, ob man sich bei der Messung der Sauerstoffpartialdrucke im Blut und Gewebe auf die Eichkurve beziehen dürfe, die in einer physiologischen Kochsalzlösung aufgenommen wurde (62)(89). Cater (20) hatte früher bei seinen Versuchen festgestellt, daß ein Zusatz von Protein bis zu 2% in der Eichflüssigkeit keine Veränderung des Meßstromes brachte. Bei Proteinkonzentrationen über 2,5% fand Cater um 15% niederere Ströme als bei der Eichung in physiologischer Kochsalzlösung. Die Ursache für diese Stromänderung schrieb er zu 1/5 einer verminderten Löslichkeit des Sauerstoffs in den Proteinen und zu 4/5 anderen Faktoren, wie Viskositätserhöhung und Änderung der Diffusionskonstanten zu. Spätere Messungen Caters und anderer (18) ließen erkennen,

daß auch höher prozentige Proteinlösungen keine Änderung der Eichkurve ergaben. Messungen Caters (20) in einem Modellgewebe aus gepresster Baumwolle und extrazellulärer Flüssigkeit (70% feste Bestandteile, 30% flüssige Bestandteile) zeigten nur eine Abweichung von 5% gegenüber der Eichkurve, die in der extrazellulären Flüssigkeit aufgenommen wurde. Das Problem unterschiedlicher polarographischer Verhältnisse in Lösungen gegenüber Geweben wurde von Cater durch folgende Versuchsanordnung untersucht: Ein Gewebe, das entblutet und auf $0^{\circ}C$ gebracht war, wurde mit physiologischer Kochsalzlösung als Eichflüssigkeit, die wechselnde Sauerstoffkonzentration enthielt, perfundiert. Vorausgesetzt, daß das Gewebe bei dieser niedrigen Temperatur keinen Sauerstoff verbrauchen würde, sollte die Eichkurve im Gewebe der in der Eichflüssigkeit aufgenommenen entsprechen. Leider durfte jedoch bei dieser Anordnung nicht angenommen werden, daß kein Sauerstoffverbrauch im Gewebe stattfinden würde. Bei sehr schneller Perfusion des Gewebes jedoch ergaben sich dort Eichkurven, die sich kaum von denen in der Eichflüssigkeit aufgenommenen unterschieden.

Auf Grund dieser Untersuchung, sowie von Experimenten von Kreuzer (72) ist eindeutig erwiesen, daß die in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommenen Eichkurven auf Messungen im lebenden Gewebe übertragen werden dürfen.

Beispiel einer Eichung:

Vol% O_2	N_2	5,02 Vol% O_2	10,1 Vol% O_2	20,9 Vol% O_2
gerührter Wert	0,10 nA	1,60 nA	3,20 nA	6,60 nA
ungerührter Wert	0,05 nA	1,40 nA	2,80 nA	5,45 nA

100% O_2 ___ 708 Torr = herrschender Luftdruck (755) - Druck des gesättigten Wasserdampfs (47 Torr)

20,9% O_2 ___ 148 Torr

10,1% O_2 ___ 71,5Torr

5,02% O_2 ___ 35,5Torr

4 ERGEBNIS

Versuchsanordnungen zur Messung an Ratten und Katzen

Die Auswahl der Versuchstiere richtete sich nach den Vergleichsmöglichkeiten für den Menschen. Die Ähnlichkeit der M/pH-Relation des Hb von Ratte und Katze zum menschlichen Hb gab bei dieser Wahl den entscheidenden Ausschlag.

4.1 Versuchsgruppe 1

Als Versuchstiere wurden weibliche Albinoratten (Wistarratte) der Fa. Ivanovas Kisslegg/Allgäu mit einem Gewicht von 200 g benützt. Sie erhielten bei Versuchsbeginn 12-15 mg Pentobarbital-Na (Nembutal) intramuskulär in einen Oberschenkel injiziert. Eine ausreichende Narkosetiefe war nach 20 Minuten eingetreten und sie hielt im Stadium III der Narkose über 2 Stunden an (104). Die Injektionsnadel blieb an der Einstichstelle liegen, um über die Dauer des Versuches nach Ablauf von 2 Stunden in stündlichem Abstand die Hälfte der Initialdosis injizieren zu können. Wenn das Tier auf massive Schmerzreize, etwa Quetschen der Schwanzspitze, keine Schmerzreaktionen mehr zeigte, wurde mit der Präparation begonnen. Zuerst wurden die Haare in der Schädelmitte abrasiert und dann wurde die Kopfhaut über der Stirnnaht durchtrennt. Sodann wurde die Kopfhaut nach beiden Seiten abpräpariert und die Schläfenbeine skelettiert. In dem von der Lambdanaht und der Sagittalnaht begrenzten Winkel rechts oder links der Sagittalnaht wurde mit einer Zahnarztbohrmaschine (Kaltenbach und Voigt) eine Öffnung von 2 mm Durchmesser in die Kalotte gebohrt. Wegen der größeren Handlichkeit wurde ein Winkelbohrkopf verwandt. Bei dem Bohrer selbst handelte es sich um einen Kugelbohrer mit einer Bohrkugel von 1,6 mm Durchmesser. Besonders war darauf zu achten, daß der Bohrer den anfallenden Bohrstaub aus der Öffnung auswarf, damit

Reste der Kalotte die Elektrodenspitze beim Einführen nicht verletzten. Zur Vermeidung einer starken Wärmeentwicklung und einer Denaturierung des darunter liegenden Hirngewebes konnte die Kalotte nur stufenweise aufgebohrt werden, wobei die Bohrstelle immer wieder mit physiologischer Kochsalzlösung abzukühlen war. Meist wurde mit der Kalotte auch schon die Dura mater durchbohrt. War sie jedoch noch nicht durchtrennt, was bei einer Sondierung des Bohrloches mittels einer spitzen Pinzette an dem federnden Widerstand leicht wahrgenommen werden konnte, so wird die Dura mater mit einer Lanzette sorgfältig durchtrennt. Bei der Präparation wurde sorgfältig darauf geachtet, daß es zu keiner Blutung kam. Blutungen aus der Schädelkalotte wurden mit Wachs und Fibrin gestillt, da all diese Blutungen das Meßergebnis verfälschen.

Vorrichtung zur CO-Luftgemischexposition der Tiere

Die Tiere wurden nach diesem kleinen operativen Eingriff in einen Plexiglaskasten gelegt, der 30 cm lang, 20 cm breit und 11 cm hoch war. Die Vorderwand des Kastens war abzunehmen und enthielt in der Mittellinie eine Öffnung zur Einleitung des CO-Luftgemisches. Über einen Gummischlauch wurde das CO-Luftgemisch genau auf die Nase des Tieres gelenkt. Durch eine Öffnung an der Rückwand des Käfigs wurde das CO-Luftgemisch in den Abzug geleitet. Das eingegebene CO-Luftgemisch strich also kontinuierlich von der Vorderseite zur Rückwand des Käfigs, vorbei an der Nase des Tieres (Arbeiten im Flow). Im Gegensatz zu früheren Arbeiten in dieser Untersuchungsreihe im geschlossenen Kreis war bei dem hier benutzten Verfahren nicht zu fordern, daß der Käfig vakuumdicht sein müßte. Ein Vorteil des Arbeitens im Flow war auch, daß bei etwa nötigen Veränderungen an der Befestigung der polarographischen Elektroden am Tier der Käfig jederzeit geöffnet werden konnte, ohne daß die CO-Konzentration in der Atemluft sich ändern konnte. Zur CO-Luftgemischexposition der Tiere wurden entweder fertige CO-Luftgemische mit Analysenzertifikat benützt oder es wurden aus synthetischer Luft und reinstem CO durch zwei Wösthoffpumpen (Typ SA 18 F und SA 27) die entsprechenden Gemische hergestellt und die Konzentrationen durch den Infrarotgasanalysator

Uras von Hartmann und Braun kontrolliert. Zur Beatmung einer Ratte mußte auf Grund des O_2- und CO-Verbrauchs pro Stunde 30 l des Gasgemisches gleichförmig durch den Käfig fließen. Vor Einleitung des Gasgemisches in den Käfig, perlte dieses, um eine relative Feuchte von 60% in der Einatemluft der Tiere sicherzustellen, durch eine wassergefüllte Waschflasche. Das an der Rückwand des Käfigs herausgeleitete Gas wurde nochmals im Uras auf seinen CO-Gehalt geprüft. Dabei wurden in der Anfangsphase 85% der im Bereich der Nase des Tieres eingeblasenen CO-Konzentration gemessen.

Vorrichtung zur Einführung der Mikroelektrode

Während die AgAgCl-Elektrode (Referenzelektrode) schon außerhalb des Käfigs unter die Kopfhaut des Tieres genäht wurde, konnte die Mikroelektrode wegen ihrer extremen Fragilität erst im Käfig mittels einer Führungsschiene implantiert werden. Zu diesem Zweck war in den Deckel des Käfigs eine 15 mm große Öffnung gebohrt worden, in der ein gleichgroßes KPG-Rohr mit der dazugehörenden dicht abschließenden Hülse steckte. An dieser Hülse war mittels eines Teflonblöckchens die Mikroelektrode befestigt und wurde durch Senken der Hülse in das als Führungsschiene dienende KPG-Rohr in die Schädelöffnung gesenkt. Von besonderer Wichtigkeit für die nachfolgende Messung war, daß die Mikroelektrode sofort aus der Eichflüssigkeit in das Gewebe eingestochen wurde, weil es sonst zu einem Zusammenbruch des Polarisationszustandes der Elektrode gekommen wäre. Sobald die Elektrodenspitze das Gewebe berührte, zeigte das Meßgerät einen Strom im Bereich von 10^{-8} Ampere an. Wegen der Schwierigkeit die Elektrode auf die Schädelöffnung zu zentrieren, konnte bei der Implantation auch die Elektrodenspitze abbrechen. Dadurch wurde die messende Platinoberfläche weitaus größer als 5 µ was einen Meßstrom weit über 10^{-9} Ampere ergab und jede Mikromessung unmöglich machte.

Aus dem Käfig wurde ein kleiner Schlauch herausgeleitet, der mit der im Oberschenkel des Tieres liegenden Kanüle verbunden war, so daß das Tier stündlich durch i.m. Gaben des Barbiturates betäubt gehalten werden konnte. Am Ende der Exposition wurde sofort intracardial Blut für die COHb-Bestimmung entnommen.

Ein Vorteil dieser Versuchsanordnung war, daß der mit dem CO-Luftgemisch zu füllende Raum sehr klein war (6,6 l) und deswegen die CO-Konzentration sehr rasch geändert und je nach Situation des Tieres auch mit Luft oder reinem O_2 beatmet werden konnte. Der Nachteil dieser ersten Versuchsanordnung war die starre Verbindung zwischen dem Käfig, der Elektrodenzuführung und dem Tier. Die Versuche erforderten eine relativ tiefe Narkose, da die geringste Bewegung zum Abbrechen der Elektrode führte. Außerdem zeigte sich im Diagramm eine Änderung der gemessenen Werte parallel zu den Atemexkursionen. Dies läßt annehmen, daß schon bei normaler Atemtiefe der Atemvorgang zu einer leichten Bewegung der Meßspitze der Elektrode führte.

Versuch Nr. 11

Solange die Ratte synthetische Luft einatmete, betrug der Sauerstoffpartialdruck 32 Torr. Dann wurde der Käfig mit einem CO-Luftgemisch gefüllt, das 500 vpm CO enthielt. 10 Minuten nach Einleitung des CO-Luftgemisches sank der Sauerstoffpartialdruck ab und hatte 30 Minuten nach Einleitung des CO-Luftgemisches einen Wert von 16 Torr erreicht. Auf dieser Höhe blieb der Sauerstoffpartialdruck über einen Zeitraum von 10 Minuten und sank dann im Laufe weiterer 20 Minuten langsam kontinuierlich ab. Bei Versuchsende (60 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition) betrug der Sauerstoffpartialdruck 13,5 Torr. Zu diesem Zeitpunkt betrug der mit CO besetzte Hb-Anteil 34 %. Der Ausgleich zwischen CO in der Einatmungsluft und im Blut dürfte sich damit eingestellt haben.

Versuch Nr. 8

Bei diesem Versuch bekam die Ratte reinen Sauerstoff zu atmen. Mit der Mikroelektrode wurde dabei ein pO_2 von 30 Torr gemessen. Schon 5 Minuten nach Einleitung von synthetischer Luft in den Käfig sank der Sauerstoffpartialdruck steil bis auf einen Wert von 16 Torr ab. Nach weiteren 20 Minuten wurde die Ratte einem CO-Luftgemisch ausgesetzt, das 150 vpm CO enthielt. 15 Minuten nach Einleitung des CO-Luftgemisches sank der pO_2 innerhalb von weiteren 20 Minuten auf den Wert von 11,5 Torr, der auch im weiteren

Versuchsverlauf nicht mehr unterschritten wurde und bei Beendigung des Versuches 70 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition noch bestand. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Ratte einen CO-Hb Wert von 9,1 %. Nach einer Zeit von 70 Minuten nach der Exposition mit 150 vpm CO hat sich damit das Gleichgewicht zwischen CO in der Einatemluft und dem Blut eingestellt.

Sofort im Anschluß an diesen Versuch bekam die Ratte reinen Sauerstoff zu atmen. Schon 2 Minuten nach Einleitung des reinen Sauerstoffs kam es zu einem sofortigen und sich innerhalb einer Minute vollziehenden Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes auf 32 Torr. Damit hatte sich bei Einatmung von Sauerstoff der Wert des cerebralen Sauerstoffpartialdruckes wieder eingestellt, der vor der CO-Exposition mit 150 vpm CO bestanden hatte.

Versuch Nr. 9

Ausgehend von einem cerebralen Sauerstoffpartialdruck von 29,5 Torr für die Atmung von reinem Sauerstoff setzten wir die Ratte einem CO-Luftgemisch mit 200 vpm CO aus. 5 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition sank der Sauerstoffpartialdruck exponentiell ab. Dabei wurden die Amplituden der Kurve, die den Atemexkursionen entsprachen, immer kleiner. 70 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition kam es zum Atemstillstand. Der cerebrale pO_2 betrug dabei 5 Torr, der CO-Hb Wert 22,6 %.

4.2 2. Versuchsgruppe

In einer weiteren Versuchsanordnung wurde, nachdem der Schädel in der unter 4.1 beschriebenen Weise präpariert und aufgebohrt worden war, die Elektrode dem Tier außerhalb des Käfigs an einer senkrecht gestellten Schieblehre (Höhenreisser) als Führungsschiene implantiert, nachdem die Referenzelektrode zuvor wieder unter die Kopfhaut genäht worden war. Nachdem dann die Umgebung

der Einstichstelle sorgfältig getrocknet und die an den Schnittflächen der Haut austretenden Gefäße koaguliert waren, wurde die herausragende Elektrode mit Paladur umgossen. Dieses verband beim Festwerden die Elektrode mit der Kalotte fest. Dabei konnte deutlich beobachtet werden, wie während des Abbindens des Paladurs die atemsynchronen Schwankungen in den Meßausschlägen gedämpft wurden, um dann beim Erstarren ganz zu verschwinden. Mit dieser so eingepflanzten Elektrode wurde das Tier wieder in den Käfig zur CO-Luftgemischexposition gebracht. Der Vorteil dieses Verfahrens bestand darin, daß nur eine flache Narkose erforderlich war und kurze spontane Bewegungen des Tieres keine Störung der Messung verursachten. Ein entscheidender Nachteil des Verfahrens bestand jedoch darin, daß die Elektrode so fest fixiert war, daß sie bei Versuchsende nicht ungeschädigt entfernt und nachgeeicht werden konnte.

Schwierigkeiten bei der Fixation traten jedoch dann auf, wenn das Paladur durch die Sekretion der nahe gelegenen Wundränder der Subcutis unterspült und vom Schädeldach abgehoben wurde. Diese Gefahr besteht besonders bei der Ratte, da der Schädel für die Paladurfixationsplatte etwas klein ist. Am Ende der COHb-Luftgemischexposition wurde sofort intracardial Blut für die COHb-Bestimmung entnommen.

Versuch Nr. 13

Bei einem pO_2 von 22 Torr für die Einatmung synthetischer Luft zeigte sich bei der Gabe von reinem Sauerstoff innerhalb von 2 Minuten ein steiler Anstieg auf einen Sauerstoffpartialdruck von 46 Torr. Im Verlauf weiterer 15 Minuten stieg der Wert weiter an bis auf 53 Torr. Nach Gabe von synthetischer Luft sank innerhalb von 5 Minuten der pO_2 auf 26 Torr und dann im Verlauf weiterer 30 Minuten auf 22 Torr. Dann wurde die Ratte einem CO-Luftgemisch ausgesetzt, das 600 vpm CO enthielt. 10 Minuten nach Beginn der CO-Exposition sank der Sauerstoffpartialdruck ab und hatte 30 Minuten nach Beginn der Einleitung des CO-Luftgemisches einen Wert von 11 Torr erreicht. Im Laufe der nächsten 60 Minuten sank der pO_2 weiter auf 2 Torr ab. Dieser Wert zeigt sicher eine schwere Hypoxie des entsprechenden Gehirnbezirks

an. Das Tier überlebte. Bis zum Versuchsende 110 Minuten nach Beginn der Einleitung des CO-Luftgemisches mit 600 vpm CO waren 43,9% des Hämoglobins mit CO besetzt. Dieser Wert zeigt den stattgefundenen Ausgleich zwischen CO in der Einatmungsluft und im Blut an.

Versuch Nr. 12

Solange die Ratte synthetische Luft atmete, zeigte sich über 30 Minuten ein Niveau des cerebralen Sauerstoffpartialdruckes von 19 Torr. Dann wurde die Ratte einem CO-Luftgemisch ausgesetzt, das 280 vpm CO enthielt. 10 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition kam es zu einem steilen Abfall des pO_2 auf einen Wert von 11,5 Torr und während weiterer 10 Minuten zu einem langsamen Abfall auf 6,5 Torr. Bis zum Ende des Versuches, 60 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition, blieb der cerebrale Sauerstoffpartialdruck auf diesem Niveau. Bei Versuchsende betrug der CO-Hb Wert 25,5% und entspricht damit noch nicht einem völligen Ausgleich zwischen CO in der Einatmungsluft und im Blut.

Versuch Nr. 4

Bei Einatmung von synthetischer Luft hielt sich der cerebrale Sauerstoffpartialdruck auf einem Niveau von 22 Torr. Nach Füllung des Käfigs mit einem CO-Luftgemisch, das 100 vpm CO enthielt, stieg, wahrscheinlich als Folge der nachlassenden Narkose, der pO_2 auf 25 Torr an, um dann innerhalb von 5 Minuten auf einen pO_2 von 13 Torr abzusinken. Bis zum Versuchsende, 60 Minuten nach Beginn der CO-Luftgemischexposition, wurde die Ratte zunehmend wacher. Parallel mit der Barbituratelimination stieg auch der pO_2 an und betrug am Ende des Versuchs 15 Torr. Zu diesem Zeitpunkt war im Blut ein CO-Hb Wert von 13%. Damit hatte sich bei der Ratte das Gleichgewicht zwischen CO in der Einatmungsluft und im Blut eingestellt.

4.3 Versuchsgruppe 3

Um die Fixierung der Elektrode gegenüber der unter 4.2 beschriebenen Versuchsanordnung zu optimieren und um noch weitere Parameter wie Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut und Lage der Elektrode im Gehirn besser registrieren zu können, waren größere Versuchstiere nötig. Nachdem in früheren Versuchen des Instituts Meßwerte für Katzen bei CO-Luftgemischexposition vorlagen, wurden auch hier Katzen gewählt. Die Katzen waren durchschnittlich 3-3,5kg schwer und erhielten eine halbe Stunde vor der Präparation 0,01ml Atropin und 100 mg/kg Körpergewicht Pentobarbitalnatrium (Nembutal) intramuskulär. Damit wurde eine nicht sehr tiefe Narkose erreicht, die etwa 5-6Stunden anhielt. Zur Implantation der Elektrode und während des ganzen Versuchsablaufes wurden die Katzen auf eine Operationsbank gelegt und an den 4 gestreckten Extremitäten festgebunden. Die Technik der Implantation erfolgte wie in der Versuchsgruppe 2.

Vorrichtung zur Exposition der Katzen mit CO-Luftgemischen verschiedener CO-Konzentrationen

Nach der Implantierung und Fixierung der Elektrode wurde ein Plexiglastunnel über den Kopf des Tieres gestülpt, der zur Vermeidung einer, das Meßergebnis störenden elektrostatischen Aufladung, mit einem geerdeten Kupfernetz, entsprechend einem Faradaykäfig ausgeschlagen war. An der Vorderseite des Tunnels wurde über einen Schlauch das CO-Luftgemisch (60 l/Std.) direkt auf die Nase des Tieres geleitet. An der Rückseite des Tunnels war eine Öffnung, die gerade so groß war, daß der Hals des Tieres ohne Beengung Platz fand. Diese "Tunnelhaube" sorgte dafür, daß an der Nase des Tieres immer die im zugeleiteten Gemisch enthaltene CO-Konzentration bestand. Der Flow an der Nase war so gewählt, daß im Bereich der Nase durch die Ausatemluft kein CO_2-Anstieg entstand. Operationsbank und CO-Luftgemischexpositionstunnelhaube wurden für den laufenden Versuch in einen großen Plexiglaskäfig eingesetzt, der 100 cm lang, 50 cm breit und 50 cm hoch war. Je nach Versuchsaufbau wurden zuvor noch Katheter zur PO_2-Messung im venösen Blut eingeführt.

4.4 Versuchsgruppe 4

Der Sauerstoffpartialdruck, registriert mit polarographischen Mikroelektroden bei Atmung reiner Luft (ohne jede CO-Beimengung)

Wie in der Versuchsgruppe 2 und 3 beschrieben erhielten die Tiere für die Zeit des operativen Eingriffs eine Barbituratnarkose. Wie schon von früheren Versuchen bekannt, wurde bei der in Versuchsgruppe 2 und 3 injizierten Dosis Pentabarbitalnatrium eine narkosebedingte Senkung des PO_2 beobachtet. Diese durch Abnahme der Mikrozirkulation, manchmal zusätzlich durch Atemdepression bedingte Senkung des Sauerstoffpartialdrucks begann nach 35 Min. zu physiologischen Werten zurückzugehen, die etwa 60 Minuten nach Narkose wieder erreicht wurden. Von Cater und Silver (19) war bei Messungen in nicht aneasthesierter Oberschenkelmuskulatur des Menschen bei Ruhebedingungen eine fallende Tendenz der Meßaufzeichnung mit seinen Mikroelektroden festgestellt worden. Sie bezogen diese Sauerstoffpartialdruckabnahme auf Veränderungen im Gewebe beim Einstich der Elektroden, z.B. durch Gefäßspasmen. In dieser Versuchsgruppe war es erforderlich, das Verhalten des PO_2-Wertes über einen Versuchszeitraum von 3 Stunden nachzuweisen, da eine fallende Tendenz der Elektrode leicht einen CO-Effekt hätte vortäuschen können.

Weiterhin war es erforderlich, noch einmal einen durch die Narkose unbeeinflußten Sauerstoffpartialdruck als zeitlichen Ausgangspunkt für alle CO-Expositionsversuche nachzuweisen. Ratten und Katzen wurden wie alle anderen Versuchstiere der CO-Expositionsgruppen narkotisiert und behandelt und der PO_2 im Gehirn über die Dauer von 3-6 Stunden registriert. Dabei wurde an Stelle eines CO-Luftgemisches synthetische Luft (20,9% O_2, 0,03% CO_2) in den Käfig mit gleicher Geschwindigkeit wie bei den CO-Expositionsversuchen eingeblasen.

Beschreibung einzelner ausgewählter Versuche

Versuch Nr. 2 mit Beatmung reiner Luft

Bei dieser Katze hatte die gewählte Einstichtiefe einen Sauerstoffpartialdruck von 13,5 Torr ergeben. Das Tier verhielt sich während des ganzen Versuches recht ruhig. Der Sauerstoffpartialdruck änderte sich in dem Meßzeitraum von 3 Stunden nicht und betrug am Versuchsende 14 Torr. Nach der dritten Stunde zeigte sich eine steigende Tendenz des Sauerstoffpartialdruckes bis auf einen Wert von 20 Torr. Möglicherweise ist dieser Anstieg durch eine postnarkotische Atemsteigerung verursacht. Der PO_2 venös lag bei Versuchsende bei 39,5 mm.

Versuch Nr. 4 Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 90 ppm Abb. 1

Vor der CO-Exposition bekam die Katze synthetische Luft zu atmen. Dabei stellte sich ein Niveau eines Sauerstoffpartialdruckes von 36 Torr ein. Anschließend erfolgte Exposition gegenüber einem CO-Luftgemisch (90 ppm CO, 20 Vol% O_2, 0,03 Vol% CO_2). Bei Ruheatmung und allgemeinen Ruhebedingungen der Katze kam es 30 Minuten nach CO-Expositionsbeginn zum deutlichen Abfall des PO_2. Ihm folgte ein weiteres kontinuierliches Absinken bis auf einen Wert von 19 mm Hg, der nach 2 Stunden und 50 Minuten erreicht war. In der weiteren Beobachtungszeit von 45 Minuten blieb der PO_2 Wert auf diesem Niveau. Entsprechend den mathematisch-physikalischen und experimentellen CO-Aufnahmewerten bei Katzen hat sich nach 2 Stunden und 50 Minuten ein weitgehendes CO-Gleichgewicht zwischen Atemluft, Blut und Gewebe eingestellt. Der COHb-Wert betrug bei Versuchsende 9,6%, was ebenfalls das Erreichen dieses Gleichgewichtes bestätigte.

Versuch Nr. 5 Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 200 ppm Abb. 2

Nach Abklingen des Narkose PO_2-Effektes stellte sich bei Einblasen synthetischer Luft in den Käfig ein Niveau des Sauerstoffpartialdruckes bei 22 Torr ein.

Nach 40 Minuten wurde die Katze gegen ein Gemisch synthetischer Luft mit einem Zusatz von 200 ppm CO exponiert. Während der ersten halben Stunde der CO-Luftgemischexposition erwachte die Katze schon soweit aus der Narkose, daß sie sich nach 30 Minuten spontan bewegte.
Gleichzeitig mit der erhöhten Muskelaktivität kam es während der weithin unveränderten CO-Exposition zu einem steileren Absinken des PO_2 als vor- und nachher unter absoluten Ruhebedingungen. Während eines postnarkotischen ruhigen Schlafes sank dieser PO_2-Wert trotz weiteren COHb-Anstieges nicht mehr wesentlich ab.

In der 2. Hälfte der 3. Stunde wurde die Katze wieder sehr unruhig. In Abhängigkeit von der stärker werdenden Bewegung und dem erneut erhöhten O_2-Verbrauch trat ein weiteres rasches Absinken des PO_2 auf 10 Torr innerhalb von 15 Minuten ein. Auf diesem Niveau hielt sich der Sauerstoffpartialdruck bis zum Versuchsende, 3 Stunden nach Beginn der CO-Exposition. Der COHb-Gehalt betrug bei Versuchsende 24,1 % COHb.

Versuch Nr. 6 Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 280 ppm

Wie in den vorigen Versuchen wurde, nachdem sich bei Atmung von Luft ein PO_2-Niveau eingestellt hatte, mit der CO-Luftgemischexposition der Katze begonnen. Die CO-Konzentration betrug 280 ppm. 50 Minuten nach Beginn der CO-Exposition war der Abfall des Sauerstoffpartialdruckes deutlich zu erkennen und sank im weiteren Versuchsablauf kontinuierlich. Nach 2 Stunden und 30 Minuten trat praktisch keine weitere PO_2-Abnahme ein. Der PO_2 war unter dieser CO-Exposition von 38 Torr auf 12 Torr gesunken, während der COHb-Wert auf 28,6 % angestiegen war und damit nahezu das Gleichgewicht zwischen CO in der Einatmungslauft und Blut erreicht hatte.

Versuch Nr. 7 a Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 250 ppm Abb. 3

Nach Implantierung der Elektrode stellte sich, solange die Katze Luft einatmete, ein Sauerstoffpartialdruckniveau von 37 Torr ein. Direkt nach Beginn

einer Exposition mit einem CO-Luftgemisch (CO-Konzentration 250 ppm) kam es zu einem sofortigen Anstieg des PO_2 auf 39 Torr. Dieser Anstieg entsprach einer kurzfristigen Hyperventilation während der Aufwachphase nach der Barbituratnarkose. Während diesem PO_2-Anstieg wurde bei dem Tier eine vertiefte Atmung und eine verstärkte Bewegung der Bulbi oculi registriert. 35 Minuten nach der CO-Exposition trat dann wie bei den anderen Expositionsversuchen ein deutlicher Abfall des PO_2 auf 33 Torr ein. Die PO_2-Abnahme hielt im weiteren Versuchsablauf kontinuierlich an bis 2 Stunden und 40 Minuten nach Expositionsbeginn. Trotz des weiteren Erhaltens der CO-Exposition kam es zu keinem weiteren PO_2-Abfall. Der COHb-Wert hatte mit 28,7 % auch das Gleichgewicht CO Atemluft/Blut erreicht.

Versuch Nr. 8 Exposition mit einem CO-Luftgemisch konstanter CO-Konzentration von 250 ppm Abb. 4

Bei diesem Versuch wurde die Elektrode weit entfernt von einer Ateriole eingestochen. Unter Ruhebedingungen und Einblasen von Frischluft in den Käufg liegt der Sauerstoffpartialdruck auf einem Niveau von 10 Torr. Nach Exposition gegenüber einem CO-Luftgemisch mit einer CO-Konzentration von 250 vpm kam es 30 Minuten nach Beginn der CO-Exposition zu einer Abnahme des PO_2 auf 6 Torr. In den nächsten 30 Minuten trat ein weiteres Absinken des PO_2 auf. Während der darauffolgenden 20 Minuten kommt es dann zur PO_2-Abnahme auf einen Sauerstoffpartialdruck von 1 Torr. Bis zur 150. Minute nach Beginn der CO-Luftgemischexposition kam es zu keiner weiteren meßbaren PO_2-Veränderung. Der Versuch wurde beendet. Das Tier überlebte. Bei Versuchsende betrug der CO-Hb-Wert 27,4 %.

Versuch Nr. 9 Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 145 vpm

Auch bei diesem Versuch wurde die Elektrode in einen arteriolenfernen Gewebeteil eingestochen. Dementsprechend betrug bei Einblasen reiner Luft in

den Käfig der PO_2-Wert 8,5 Torr. Nach Exposition mit einem CO-Luftgemisch bei einer CO-Konzentration von 145 vpm kam es 25 Minuten nach Beginn der CO-Exposition zu einem ersten deutlichen Absinken des PO_2 auf 5,5 Torr innerhalb eines Zeitraumes von 10 Minuten. Dieser Wert blieb über 20 Minuten nahezu konstant. Inzwischen war der CO-Hb Wert auf 10 % angestiegen. Zu diesem Zeitpunkt kam es zu kräftigen Bewegungen des Tieres. Sofort mit Beginn der Bewegung stieg der O_2-Partialdruck peakartig um 2 Torr auf 7,5 Torr an, um dann innerhalb der nächsten 5 Minuten steil auf 1 Torr abzusinken.

Der kurzfristige PO_2-Anstieg, der bei ähnlichen Versuchen nur vereinzelt zu beobachten ist, kann bei der venösen Hypoxie der CO-Angiftung nur als zirkulatorisches Phänomen vermutet werden. Eine bei körperlicher Bewegung der Tiere beobachtete Ventilationssteigerung ist bei der Form der O_2Hb-Hämoglobinfunktion nicht in der Lage, den Gewebe-PO_2 zu steigern. Die Ursache des steilen Abfalls ist in allen Versuchen, bei welchen eine körperliche Aktivität beobachtet wurde, in gleicher Weise auf den erhöhten Sauerstoffverbrauch bei der Bewegung zurückzuführen. Bei 1 Torr stellte sich dann auch das Niveau des PO_2-Wertes für den erreichten CO-Ausgleich ein. Die Katze war wieder ruhig geworden und atmete gleichmäßig.

Messungen unter 1 Torr bis 0 Torr sind sehr schwer noch in 1/10 Torr abzuschätzen. Nachdem über 20 Minuten keine Veränderung des PO_2 mehr eintrat, wurde der Versuch abgebrochen. Der COHb-Wert betrug bei Versuchsende 16,3 % und stellt noch nicht den Gleichgewichtswert dar.

Versuch Nr. 12 Exposition mit einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 800 ppm

Die Lage der Elektrode gab hier einen arteriolennahen Wert des PO_2 von 47 mm Hg. Nach Exposition mit 800 ppm CO in der Atemluft zeigte sich ein kurzzeitiger Anstieg auf 55 mm Hg möglicherweise als Reflex auf das etwas kältere CO-Luftgemisch das die postnarkotische Wirkung durchbrach und so den eigentlichen "Ruhewert" dieses Hirngewebebezirkes anzeigte. 25 Minuten später setzte

dann die CO-induzierte PO_2-Abnahme ein, die innerhalb von 5 Minuten 40 Torr erreicht hatte. Diese PO_2-Abnahme erfolgte besonders schnell, da die Katze während dieser Zeit Rücken- und Extremitätenmuskulatur kontrahierte. Ab 90 Minuten wurde die Katze ruhig, der PO_2 zeigte daraufhin über 60 Minuten keine weitere PO_2-Abnahme. Inzwischen hatte die CO-Sättigung des Blutes 38% COHb erreicht. Der über 60 Minuten gleichgebliebene PO_2 kann als Erholung der O_2-Versorgung des Gewebes durch die Ruhebedingungen des Tieres erklärt werden. Nach der 190. Minute kam es zur kontinuierlichen weiteren Senkung des PO_2. Nach weiteren 60 Minuten war in dem arteriolen-nahen Gewebebezirk ein offensichtlich kritischer PO_2-Wert von 8 Torr erreicht. Zu dieser letzten Stunde wurde auch nahezu das Gleichgewicht zwischen CO-Konzentration in der Einatmungsluft und im Blut mit 56 % COHb erreicht.

Aufzeichnung eines Versuchsdiagramms

Jedem Versuch ging die Aufzeichnung einer Eichkurve für Luft (20,9 Vol% O_2), 10 Vol% O_2, 5 Vol% O_2 und reinstem Stickstoff (der jedoch nach dem Analysenzertifikat noch immer 50 ppm Sauerstoff enthalten kann) voraus. Dann wurde die Elektrode, ohne aus ihrer Polarisation genommen zu werden, in das Hirngewebe des Tieres eingestochen, und zwar so, daß sich die Meßspitze in der Hirnrinde und in einem Grenzgebiet zwischen dem arteriellen und venösen Versorgungsbereich befand. Die intracerebrale Lage der Meßstelle konnte, grob orientierend folgendermaßen bestimmt werden: Der Meßwert in nA wurde mittels der Eichkurve in mm Hg übertragen und mit den von Lübbers (79) mit einer entsprechenden Meßeinrichtung an verschiedenen Stellen des Gehirns bestimmten physiologischen Sauerstoffpartialdruckwerten verglichen.

Nach der Implantation kam es dann, bis die Elektrode durch Paladur fest am Schädeldach verankert war, zu atemsynchronen Schwankungen der Meßwerte. Diese wurden mit dem Abbinden des Paladurs kleiner und verschwanden bei dessen Verfestigung. Um die Empfindlichkeit der eingepflanzten Elektroden

für wechselnde Sauerstoffpartialdrucke zu kontrollieren, bekam das Tier in einigen Versuchen 10 Minuten reinen Sauerstoff (124) zu atmen. Innerhalb von 15 Sekunden kommt es hierauf zu einem steilen Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes auf Werte um 50-90 Torr O_2. Anschließend wird in die Tunnelhaube dem Tier Luft zum Atmen gegeben bis eine Niveaubildung im Diagramm, d.h. ein steady state-Wert des PO_2 für Luftatmung sich eingestellt hat. Anschließend bekam das Tier für etwa 2 Stunden ein CO-Luftgemisch zu atmen. Zum Versuchsende wurde sofort nach Öffnung des Käfigs durch eine intracardiale Punktion Blut zur Hb- und COHb-Bestimmung gewonnen. Außerdem wurde bei einer Reihe von Versuchen im Anschluß an den Versuch venöses Blut so luftdicht abgenommen, daß mit der Clark-Elektrode und der Meßvorrichtung des Eschweilergerätes der zu Versuchsende aktuelle PO_2-Wert und pH-Wert im venösen Blut bestimmt werden konnte. Sodann wurde die Elektrode aus dem Gehirngewebe gezogen und in der unter 3.7 beschriebenen Eichzelle nachgeeicht. Die Eichwerte der Nacheichung mit den bei der Eichung vor der Implantation verwendeten Eichgasgemischen, zeigte gleiche Meßwerte, wie bei Beginn des Versuchs.

5 DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit den Veränderungen des Sauerstoffpartialdruckes des Hirngewebes in vivo bei CO-Einwirkungen. Um den primären CO-Effekt zu erkennen, wurde der Einfluß von verschiedenen CO-Konzentrationen während der Dauer von jeweils mindestens 3 Stunden gemessen. Die Messung mittels Mikroelektroden ist im einzelnen in den Abschnitten 3 und 4 dargestellt. In den Abschnitten über die Eichung der Mikroelektrode sind die Fehlerquellen diskutiert, die bei der Übertragung der in einer Eichlösung aufgestellten Eichkurve auf die Messung im Gewebe auftreten könnten. Weiterhin muß die Messung mit der Mikroelektrode daraufhin untersucht werden, ob nicht Veränderungen an der Elektrode selbst oder durch die Elektrode verursachte Veränderungen im Gewebe eine Ab- oder Zunahme des PO_2 vortäuschen könnten.

Bei mehreren Blindversuchen, d.h. Messungen des zerebralen PO_2 unter Versuchsbedingungen während einer zweistündigen Beatmung mit reiner Luft, traten keine elektrodenbedingte Veränderungen des PO_2 auf. Im besonderen wurden noch folgende Fehlerquellen, die das Meßergebnis beeinflussen könnten, untersucht:

1) Zu großer Eigenverbrauch der Mikroelektrode an Sauerstoff.

2) Bildung von Carbonylen an der Platinelektrode.

3) Bindung von S und SH Gruppen aus gewebeeigenen Schwefelverbindungen an die Elektrodenspitze in Form von Komplexen.

4) Veränderung der messenden Platinoberfläche durch Proteine, entweder durch elektrophoretische Abscheidung, Änderung der Diffusionskonstanten und der Viskosität oder durch Lösung des Sauerstoffs in den Proteinen.

5) Störung durch zelleigene Potentiale (elektrische Muskel- und Nervenaktivität).

6) Mechanische Störung der Mikrozirkulation durch das Einstechen der Elektrode.

Zu 1) Nach der Arbeit von Schmidt-Neilsen (114) beträgt für eine Maus der Sauerstoffverbrauch pro Gramm Gewebe und pro Minute 28,2µl beim Menschen 3-5ml/100g Gewebe/Min. (54)(84) in verschiedenen Hirnbezirken. Wir berechneten für verschiedenartig verwendete Elektroden mit einer Platinspitze von 1µ einen Sauerstoffverbrauch von $8 \cdot 10^{-2}$ µl O_2/Min.. Bei einem "kugelförmigen Gewebeeinzugsgebiet" der Elektrode von 4µ (80) und einem Versorgungsradius einer Kapillare von 24-30µ (35)(36) tritt der O_2-Eigenverbrauch der Elektrode nicht in Konkurrenz zum Sauerstoffverbrauch des Gewebes (56). Auch bei verminderter O_2-Zufuhr beeinflußt der "Eigenbedarf" der Elektrode in Relation zu der O_2-Situation des Gewebes die Gewebe-PO_2-Messung nicht.

Zu 2) Um Beeinträchtigungen des Meßergebnisses auszuschließen, die von Carbonylbildungen des Kohlenmonoxyds mit dem Platin herrühren könnten, bestimmten wir bei einer Eichung der Mikroelektrode neben dem Nullpunkt für reinsten Stickstoff auch den Nullpunkt für reinstes CO. Dabei zeigte sich keine Veränderung des Nullpunktwertes bei Durchleitung von reinstem CO gegenüber der Durchleitung von reinem Stickstoff durch das Eichgefäß. Eine vor der Durchleitung von reinstem CO durch das Eichgefäß aufgenommene Eichkurve für 5% O_2, 10% O_2 und Luft war mit einer nachher aufgenommenen Eichkurve identisch.

Zu 3) Nach einer Arbeit von Cater (20) reduzieren Schwefelverbindungen aus dem Gewebe nach einigen Stunden den Diffusionsstrom der Elektrode durch Bildung von Komplexen, so daß einer stundenlangen Messung mit Platinelektroden Grenzen gesetzt sind, mindestens dürfen die Meßergebnisse nicht mehr unbedingt auf die ursprüngliche Eichkurve bezogen werden.

Zu 4) Während nach Angaben von Cater (20) ein Zusatz von 2,5 % an Proteinen bei einer ungeschützten Meßspitze den Diffusionsstrom um 15 % senkt, davon um 3 % wegen der Löslichkeit von O_2 in den Proteinen und um 12 % durch Änderung der Diffusionskonstanten und der Viskosität, kann die elektrophoretische Abscheidung von Proteinen durch Aufbringen einer Polysyrolmembran und durch Vermeidung einer langen stromdurchflossenen Strecke im Gewebe durch enge räumliche Beziehung von Meß- und Referenzelektrode, am besten durch Aufdampfen der Silber-Silberchloridelektrode auf den äußeren Glasmantel der Meßelektrode verhindert werden.

Zu 5) Zelleigene Potentiale im Sinne eines EEG's, bzw. eines EMG's, liegen im Bereich von mV und könnten bei ihrem Auftreten im Rahmen von Messungen im nA-Bereich sofort als solche erkannt werden. Es ist aber zu vermuten, daß sie durch die Anlegung der Polarisationsspannung von 0,6-0,7 Volt unterdrückt werden. Bei unseren Messungen sind solche Störungen nicht aufgetreten.

Zu 6) Ist die Platinspitze mit dem umgebenden Glasmantel zu dick oder wird bei der Implantation der Elektrode Hirngewebe gequetscht oder zerstört, so kann die Mirkozirkulation an dieser Stelle gestört werden. Nach Speckmann und Caspers (124) weist ein fortschreitender Abfall des Sauerstoffdruckes und ein träger Anstieg bei Atmung von reinem Sauerstoff auf eine Kompression des Gewebes hin.

Nebeneffekte durch Narkosenachwirkung und durch andere Mikrozirkulationsänderungen

Um die erzielte Senkung des Sauerstoffpartialdruckes sicher einem CO-Einfluß zuschreiben zu können, muß die Narkose soweit abgeklungen sein, daß keine Wirkung des Narkotikums auf den Sauerstoffpartialdruck mehr anzunehmen ist. Der Sauerstoffpartialdruck des Gehirns wird unter einer Barbituratnarkose von mehreren Faktoren bestimmt: Nach Quastel (103) nimmt die Sauerstoffaufnahme des Gehirns in dem Maße ab, wie die Konzentration an Barbituraten zunimmt, und auch Lübbers (84a) gibt ein Absinken des Sauerstoffverbrauches des Gehirns unter einer solchen Narkose an.

Auf Grund verschiedener Messung der Hirndurchblutung mit der Stickoxydulmethode (Kety-Schmidt (65)), der Krypton-85 Methode (Ingvar (63)), Lassen und Munck (75) und der Thermosondentechnik (Betz (11)) ist in verschiedenster Hinsicht eine Minderung der Hirndurchblutung während der Barbituratnarkose gesichert.

Offensichtlich ist diese noch intensiver als die "Drosselung" des O_2-Verbrauchs. So findet sich im Beginn der hier wiedergegebenen Versuche - nach der kurzen Barbituratnarkose, die zur Implantation der Elektrode erforderlich war - meist ein leichter "postnarkotischer" Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes. Rieke und Everett (104) bestätigten den Befund einer um 30 % verminderten Hirndurchblutung durch Markierung der Erythrozyten mit 59 Fe und des Serumalbumins mit 131 Jod und Dekapitation des mit Nembutal narkotisierten und denn eingefrorenen Tieres 1 Stunde nach intraperitonaler Gabe von 15 mg Nembutal. Durch direkte polarographische Messungen des Gewebes PO_2 mittels der Platinelektrode bei wechselnden Narkotika ließe sich die Hypoxiewirkung von Narkosemitteln sicher noch deutlicher erfassen. Außerdem werden von verschiedenen Autoren (66)(70)(99)(119) Atemdepressionen unter Pentobarbital beschrieben. Bei jeder Übertragung von tierexperimentellen Ergebnissen auf den Menschen muß die Zulässigkeit einer solchen Übertragung geprüft werden. Um die Erniedrigung der Sauerstoffspannung im Gehirn von Tieren mit der im Gehirn von Menschen bei Einatmung bestimmte CO-Konzentrationen vergleichen zu dürfen, müssen verschiedene Parameter bei Mensch und Versuchstier verglichen werden:

a) Die Affinitätskonstante des jeweiligen Hämoglobins, d.h. die maximale Aufnahmefähigkeit des Blutes in gHb an CO in ml in Beziehung zum pH-Wert bei den einzelnen Tierspezies.

b) Die unterschiedlichen Sauerstoffdissoziationskurven beim menschlichen Hb und den verschiedenen tierspezifischen Hbs.

c) Der unterschiedliche Sauerstoffverbrauch der einzelnen Tierarten in Ruhe und Bewegung.

d) Die unterschiedliche Zeitdauer bis zur Erreichung des Gleichgewichts zwischen CO-Partialdruck in der Einatemluft und dem Blut bei den einzelnen Tieren.

Zu a) Die statistisch belegten, ausführlichen Untersuchungen von Fodor (42) ergaben für das Hämoglobin eine Affinitätskonstante von 245 beim Menschen und 205 bei Ratten.

Betrachtet man die Abhängigkeit der Affinitätskonstante M der einzelnen tierspezifischen Hämoglobine von dem pH-Wert im Blut von 6,7-7,8, so zeigt sich doch bei aller verschiedenen Steilheit der einer Gauss'schen Funktion ähnlichen Kurve ein Maximum der Affinitätskonstanten bei einem pH von 7,5 für Katze, Ratte und Mensch, während für andere Tiere die Maxima von 7,4-7,6 schwanken.

Zu b) Die Sauerstoffdissoziationsfunktion ist abhängig von pH und pCO_2 und wird außerdem beeinflußt durch den CO-Gehalt des Blutes. Die Sauerstoffdissoziationskurven der Hämoglobine verschiedener Tiere unterscheiden sich untereinander und von jenen des menschlichen Hämoglobins.

Zu c) Der Sauerstoffbedarf/g Gewebe und Zeiteinheit differiert innerhalb der verschiedenen Tierspecies. So findet sich bei dem Pferd ein Wert von 1,72 µl O_2/g/min., während dieser Wert bei der Maus 28,2µl O_2/g/min. beträgt.

Zu d) Bei unseren Versuchen fiel auf, daß sich bei gleichen Ruhe- bzw. Belastungsbedingungen nach Exposition gegenüber gleichen CO-Luftgemischen der dem Erreichen des Gleichgewichts zwischen Co in der Einatemluft und COHb Gehalt entsprechend erniedrigte Sauerstoffpartialdruck bei den Ratten schneller einstellte als bei den Katzen. Die unter b) und c) aufgeführten Unterschiede des Sauerstoffwechsels, des unterschiedlichen Körpergewichts und des relativ größeren Herzminutenvolumens führen zur schnelleren Aufsättigung der Gesamtblutmenge mit Kohlenmonoxid und zum früheren Erreichen eines diesem CO-Sättigungswert entsprechend gleichbleibend erniedrigten PO_2 des Gewebes.

Nach Beachtung der Faktoren a-d ist die Übertragung der bei Ratten und Katzen erzielten Ergebnisse auf den Menschen erlaubt. Das größere Körpergewicht und seine von Kleintieren verschiedene Stoffwechselintensität sind in Rechnung zu stellen, insbesondere die in Beziehung zum Körpergewicht logarithmisch kürzere Zeitdauer bis zur Einstellung des CO-Gleichgewichts im Blut.

Da nach Strotbek (126) bei einer Konzentration des CO in der Atemluft um 1000 ppm bei zweistündiger Exposition keine Änderung von pH, PCO_2 der Durchblutung des Gehirns und des arteriellen Blutdruckes auftrat, erschien es uns gerechtfertigt, diese Parameter als konstant anzunehmen und nur den Sauerstoffpartialdruck kontinuierlich zu messen. Ein Vorteil dieser Versuchsanordnung gegenüber der Messung mit Oberflächenelektroden bestand darin, daß mit kleinen Mengen an Narkotika gearbeitet werden konnte und sich somit der atemdepressorische Effekt des Barbiturates nicht störend auswirken konnte. Außerdem wurde bei diesem Verfahren ein beim Arbeiten mit Oberflächenelektroden, wegen der großen freizulegenden Hirnoberfläche, zwangsläufig auftretendes Hirnödem vermieden.

Bei Atmung reiner Luft und physiologischer Sauerstoffversorgung des Gehirns hat das Blut im Bereich der Arterien einen mittleren Sauerstoffdruck von 94 Torr und im venösen Schenkel einen mittleren Sauerstoffpartialdruck von 34 Torr (81) (92) (126). Die mittlere arterio-venöse Differenz beträgt demgemäß 60 Torr. Die Versorgung des Gewebes erfolgt vor dem weitverzweigten Kapillarnetz durch Diffusion. Entscheidend für die O_2-Versorgung des Gewebes ist daher die Anordnung dieses Kapillarnetzes und die Durchströmungsbedingungen für das Blut in diesem weitverzweigten Kapillarnetz.

Drei Modellvorstellungen über dieses Kapillarnetz sind hier zu diskutieren:

Die älteste stammt von Krogh, der für eine rechnerische Erfassung der Sauerstoffversorgung des Gewebes ein System parallellaufender, voneinander gleichweit entfernter Kapillaren annahm. Jede Kapillare ist dementsprechend von einem gleichgroßen Gewebszylinder umgeben. Die in gleicher Richtung vom Blut durchflossenen Kapillaren weisen am venösen Ende der Kapillarabnahme einen niedrigeren pO_2 als im arteriellen Schenkel auf. Gleicher Bedarf des Gewebes an Sauerstoff vorausgesetzt, müssen im Bereich nahe der Vene, am Rand der einzeln aneinanderstoßenden

Gewebezylinder "gefährdete Ecken" erwartet werden.

Weitere Berechnungen von Opitz (92) und Thews (127) an diesem Modell ergeben für die "gefährdete Ecke" einen theoretischen pO_2-Wert von 4 Torr bei einem pO_2 von ca. 18 Torr am venösen Ende der Kapillaren.

Die Modellvorstellung von Diemer (35) beläßt den parallelen Kapillarverlauf, läßt aber das Blut in den jeweils benachbarten Kapillaren entgegengesetzt fließen. Der Versorgungsbereich jeder Kapillare im Gewebe nimmt damit eine Kegelform an; am arteriellen Ende befindet sich die Basis dieses Kegels. Bei diesem Modell ist am venösen Ende jeder Kapillare nur ein sehr kleiner Gewebebezirk zu versorgen, innerhalb dessen kein wesentlicher Abfall des Sauerstoffpartialdruckes zu erwarten ist. Andererseits bietet dieses Modell am arteriellen und venösen Kapillarende eine erhöhte Möglichkeit für O_2-Shunts quer durch das Gewebe (36).

Bei umfassenden Messungen des pO_2 im Gehirn mit der Mikroelektrode hat Lübbers (84 a) sehr unterschiedliche lokale pO_2-Werte gefunden. Die Häufigkeit einen bestimmten pO_2 zu finden, entspricht einer einfachen statistischen Verteilungsfunktion, die graphisch als pO_2-Histogramm wiedergegeben werden kann. Das Maximum dieser Gauss'schen Funktion liegt bei pO_2-Werten zwischen 16 und 20 Torr. Eine arterielle Hypoxie zeigt sich durch eine "Linksverschiebung" in diesem pO_2-Histogramm an, das Maximum der Verteilungsfunktion verschiebt sich zu Werten unter einem pO_2 von 16 Torr.

Der Grad der Hypoxie in seiner Beziehung zu funktionellen Störungen der betreffenden Hirnbezirke kann auf Grund von EEG-Untersuchungen geschätzt werden und wird mit einer Senkung des PO_2 um 15 % (28, 112) angegeben.

Die laufende Messung des PO_2 des Gehirns im Sinne des PO_2-Histogramms bzw. der relativen Veränderung des PO_2 unter bestimmten äußeren Einflüssen, ist eine gute und zeitlich relevante Beurteilungsmöglichkeit. Auch die durch CO induzierte Hypoxidose, deren Wirkung am Gehirn von besonderer Veränderung des PO_2 allein auf den "CO-freien" Ausgangswert und das gemessene Areal des betreffenden Hirngewebes bezogen wird.

Die in dieser Arbeit berichteten Versuche zeigen eine deutliche Abnahme des PO_2 in allen Bezirken des Gehirns bei Katzen und auch bei Ratten unter der Exposition mit CO. Am Ende der Exposition mit CO-Konzentrationen von 145 ppm bis 1000 ppm wurden COHb-Werte im Blut zwischen 9,6 % und 70 % erreicht. Die Meßbezirke mit einem Kugelradius von 4 m lagen in unterschiedlichen Hirnbezirken, teils arteriolennah, teils ausgesprochen arteriolenfern.

Die PO_2-Messung am, bzw. im Gehirngewebe erlaubt eine genauere Aussage über die, durch CO bedingte Hypoxidose als dies bei der Messung des venösen PO_2, z.B. im Bereich der Vena jugularis möglich ist. Forster (46) weist auf Grund physiologischer Berechnungen nach, daß bei ungleichmäßiger Blutverteilung, selbst bei gleichbleibendem O_2-Verbrauch, pro Gewebseinheit der venöse PO_2 größer sein kann als der Sauerstoffpartialdruck des zugehörigen Gewebsbezirks. Otis (93) und Forster (46) (47) haben nachgewiesen, daß die CO-induzierte Form der O_2-Transportbehinderung am Hämoglobin neben der Verminderung der Transportkapazität, "Linksverschiebung" der O_2Hb-Dissoziationskurve sich zusätzlich wie ein Rechts-Links-shunt auswirkt. Diese Shuntfunktion vergrößert damit den

physiologischen, und wesentlich gravierender den Ventilations-Perfusions-quotienten. Dies ist auch der Grund dafür, daß die CO-verursachte Hypoxie nicht eine absolut nur venöse Hypoxie ist. Durch den Shunteffekt sinkt auch der arterielle PO_2 ein klein wenig ab, jedoch nicht in dem Ausmaß, daß es zu einer Auslösung reflektorischer Mechanismen der Atmung und des Kreislaufs kommen würde. Andererseits berichten jedoch Ayres und Mitarbeiter (5) über einzelne Fälle, bei welchen sie einen deutlichen Anstieg des Herzminuten-volumens und des Atemvolumens bei COHb-Werten über 6% beim Menschen beobachteten. Inwieweit letztere Untersuchungen indirekte CO-Folgen sind, geht aus den Arbeiten von Ayres nicht hervor. Beachtenswert ist jedoch, daß schon klinisch wenig ausgeprägte Störungen der Mikrozirkulationen zu einer besonderen und veränderten "Empfindlichkeit" gegenüber CO führen. So ist eindeutig nachgewiesen, daß bei Patienten mit einer Koronarinsuffizienz in Abhängigkeit von COHb-Konzentrationen über 5% eine Störung des Lactat- und Pyruvatstoffwechsels als Folge einer myocardialen Hypoxie auftritt (5).

Die oben angeführten Berechnungen Forsters basieren auf der Formel $HbO_2 + HbCO = f(PO_2 + M\ PCO)$ M Mensch = 245. Diese Formel gibt nach Forster auch die Abnahme des PO_2 im Gewebe in Abhängigkeit vom Anstieg des COHbs an. Nachdem die Formel vom Zeitpunkt t = unendlich der CO-Exposition ausgeht, kann sie nur für jene Situationen verwendet werden, bei welchen ein weitgehendes Gleichgewicht des PCO in der Einatmungsluft und des f (PCO) = HbCO im Blut erreicht ist. Da Forster, Otis und andere bei der Funktion f (PO_2 + M PCO) von der Grundfunktion der Hb O_2-Dissoziations-funktion ausgehen, erfassen sie weitgehend auch die als allosterischer Effekt bekannte Verschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve nach links (95)(111) mit dem ungünstigen Effekt auf die Abgabebedingungen des Sauerstoffs im Gewebe.

Die ursächlichen Faktoren dieser Linksverschiebung der O_2Hb-Dissoziations-funktion werden seit 1968 erneut diskutiert. Verschiebungen der HbO_2-Dissoziations-kurve können pH bedingt sein, so tritt eine Linksverschiebung auch bei einer Zunahme des PHs (Alkalose) (115) auf. Neuerdings ist bekannt, daß die bei manchen Krankheiten beobachtete Verschiebung der HbO_2-Dissoziationskurve

mit einer Zunahme (Rechtsverschiebung) oder Abnahme (Linksverschiebung) der 2,3 DPG-Konzentration in den roten Blutzellen einhergeht (10)(24). Astrup (4) berichtet, daß er nach 24-stündiger Exposition von Versuchspersonen und Tieren gegenüber niedrigen CO-Konzentrationen (20% COHb) eine Abnahme (8%) der 2,3 DPG-Konzentration in den Erythrozyten feststellen konnte. Für die Relation und den Verlauf der O_2Hb-Funktion und 2,3 DPG-Konzentration scheint ein Zeitfaktor von Bedeutung zu sein. So wurde bei der durch starken Höhenanstieg bedingten Hypoxie erst nach Stunden ein Anstieg der 2,3 DPG-Konzentration in den Erythrozyten beobachtet (77).

Für die Frage eines Zusammenhanges zwischen 2,3 DPG-Gehalt und CO-Einwirkung auf Menschen und Tier ist bekannt, daß sich das 2,3 DPG stärker an das reduzierte als an das oxydierte Hb bindet (48) und daß es zu COHb eine annähernd gleich große Affinität hat wie zum OxyHb (37). Dies deutet darauf hin, daß die durch die COHb-Bildung bedingte Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve mit einer Erniedrigung des 2,3 DPG einhergeht, bzw. durch diese mit verursacht ist.

Interessant ist das Verhalten des 2,3 DPG und der O_2Hb-Funktion bei den in schwereren Stadien der CO-Intoxikation auftretenden Azidose (126). Theoretisch ist mit einer Erniedrigung (117) des 2,3 DPG und zwar um 5% bei jeder Abnahme des pHs um 0,01 (107), vielleicht verstärkt durch die Dissoziation der freien 2,3 DPG, im Sinne des Bohreffekts (14), eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve zu erwarten.

Nachdem aus dem Bereich der Sport- und Flugmedizin (100) ausgedehnte Kenntnisse über die höhenbedingte arterielle Hypoxie vorliegen, liegt es nahe, die Bedeutung und graduelle Wirkung verschiedener CO-Konzentrationen in der Umgebungsluft und die dadurch bedingte Abnahme des Sauerstoffpartialdrucks mit der durch einen plötzlichen Höhenanstieg verursachten Hypoxidose zu vergleichen.

Der Vergleich ist nur möglich, wenn die bei beiden Hypoxieformen entstehende Sauerstoffpartialdruckminderung im Gewebe erfaßt wird. Nach den theoretischen

Überlegungen, Schätzungen und Berechnungen von Forster (46), die sich ausnahmslos nur auf die arteriovenöse Differenz und die resultierende Senkung des venösen Sauerstoffpartialdruckes beziehen, entspricht eine 4%ige Sättigung mit COHb einem schnellen Höhenaufstieg von 1800 m. Die in dieser Arbeit gemessenen PO_2-Veränderungen unter der Einwirkung von CO sind in der von Forster hypothetisch vorausberechneten Größe.

Für die arbeitsmedizinische Praxis ist daher zu folgern, daß Personen mit Herzkreislauferkrankungen, denen nach bewährtem internistischem Grundsatz abgeraten wird, sich einem Höhenunterschied über 1000 m auszusetzen, kein Arbeitsplatz zugewiesen werden kann, der zu einem Anstieg des COHbs auf 4-5% führt. Entsprechend dieser Messung und Rechnungen hat Zorn eine Tabelle entwickelt (134). Wie diese Tabelle zeigt, bietet der heutige gültige MAK Wert von 50 ppm (Gleichgewichtswert beim Mensch 8,5% COHb (Hatch (59), Forbes (45), Root (3)(109) u.a.) nur für lungen- und kreislaufgesunde Personen ausreichende Sicherheit vor einer Schädigung durch CO. Die Arbeitsmedizin und die Berufsgenossenschaften fordern daher auch bestimmte diesbezügliche Eignungsuntersuchungen.

Die Bedeutung muskulärer Aktivität für den Sauerstoffmangel bei Exposition gegenüber CO-Luftgemischen.

Bei der einzelnen Kurvenverläufen fallen noch einige Besonderheiten auf: Eine der auffallendsten Erscheinungen ist die deutliche und schnelle Erniedrigung des PO_2 unter körperlicher Beanspruchung, beim Bestehen einer CO-Intoxikation gegenüber einem gleichbleibenden Sauerstoffpartialdruck oder sogar einem Ansteigen, wenn das Tier keiner Hypoxie ausgesetzt ist, sondern sich in einem Zustand ausgeglichener Sauerstoffversorgung befindet. Während sich z.B. unter Ruhebedingungen und Einatmung von 220 ppm CO ein $\frac{d\,PO_2}{dt}$ von 0,2 ergibt, zeigt sich bei der Bewegung des Tieres ein Gradient von 0,7. Pathophysiologisch handelt es sich dabei um die Aufdeckung der CO-bedingten Sauerstoffmangelversorgung des Gehirns, die sich in Ruhe als langsame Abnahme

des PO_2 ausdrückt, jedoch in einer mit einem größeren Sauerstoffverbrauch verbundenen Bewegungssituation einen steilen Abfall des PO_2 bewirkt. Dies entspricht der bekannten Situation, daß ein Patient mit einer CO-Intoxikation in körperlicher Ruhe seinen Sauerstoffmangel kompensieren kann, während er bei der körperlichen Anstrengung, das rettende Fenster zu erreichen, bewußtlos zusammenbricht.

Die Erholungszeit des PO_2 nach CO-Intoxikationen bei Atmung von reiner Luft bzw. von reinem O_2

Bei der Messung des Sauerstoffpartialdruckes im Hirngewebe nach einer CO-Intoxikation und anschließender Beatmung mit Luft und reinem Sauerstoff lassen sich auch Hinweise gewinnen für die Therapie einer solchen Vergiftung. Während nach einer starken CO-Intoxikation mit 4000 ppm, die mit deutlicher Somnolenz und ataktischen Bewegungen des Tieres verbunden war, eine anschließende Beatmung mit Luft nur einen unbedeutenden Anstieg des PO_2 ergab und das Tier in seinem Gesamtverhalten nur unwesentlich gebessert schien, kam es durch eine reine Sauerstoffbeatmung sofort zu einem Anstieg des PO_2 auf einen Ausgangswert, den das Tier vor der CO-Vergiftung bei Atmung von normaler Raumluft in diesem Gehirnbezirk hatte. Es sei in diesem Zusammenhang auch auf das in der Form unterschiedliche Ansteigen des PO_2 hingewiesen, je nachdem ob die Beatmung mit reinem Sauerstoff nach der Beatmung mit Luft erfolgte, d.h. ob man von einer ausgeglichenen Sauerstoffversorgung ausging oder ob man im Anschluß an eine Sauerstoffmangelsituation mit reinem O_2 beatmete. Im ersten Fall kommt es zu einem langsamen und über einen längeren Zeitraum sich hinziehenden Anstieg, während im zweiten Fall ein sofortiger und steiler Anstieg bis fast auf den Endwert des neuen PO_2 beobachtet werden kann.

6.) TABELLEN

Tab. 1 Versuche an Katzen

Tab. 2 Versuche an Ratten

Tabelle 1 (Versuche an Katzen)

Nummer des Versuches	2	4	5	6	7	8	9	9a	10	11	12
eingegebene CO-Konz.	o	80	300	280	280	250	145	300	390	800	600
pO_2 bei Atmung von Luft	13,5	36	22	33	37	10	8,5	16	11	32	17
pO_2 bei Atmung der eingegebenen CO-Konz.		19	5	12	20	1	1	16	4	1	8
erster deutlicher Abfall des pO_2 nach Beginn der CO-Exposition	Blindversuch	30	30	50	35	30	25	15	40	10	15
Einstellung des neuen pO_2 nach Beginn der CO-Expos.		$2^{o}50$	3^{o}	$2^{o}30$	$2^{o}40$	75	$1^{o}5$	90	2^{o}	45	$2^{o}50$
CO-Hb bei Versuchsende		9,6 %	24,1 %	28,6 %	28,7 %	27,4 %	16,3 %	32 %	37 %	56 %	56 %
$\Delta pO_2/\Delta$ CO Hb		1,7	0,71	0,73	0,59	0,33	0,46	0,31	0,38	0,56	0,7
$\Delta pO_2/\Delta t$		0,1	0,09	0,14	0,11	0,12	0,12	0,11	0,1	0,69	0,23

Tabelle 2 (Versuche an Ratten)

Nummer des Versuches	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
eingegebene CO-Konz.	[illegible]	170	[illegible]	100	120	220	150	150	250	280	500	[illegible]	600
pO_2 bei Atmung von rein. O_2	[illegible]	55			68	89	97	[illegible]	[illegible]				[illegible]
pO_2 bei Atmung von Luft	[illegible]	21	13	22	30	36	38	40	40	19	32	20,5	27
pO_2 bei Atmung der eingegebenen CO-Konz.	[illegible]	8	10,5	15	20	28	30	14,5	5	0,5	13,5	5	[illegible]
erster deutlicher Abfall des pO_2 nach Beginn der CO-Exposition	2	2		10	5	10	10	15	5	10	10		[illegible]
Einstellung des neuen pO_2 nach Beginn der CO-Expos.	0	15	12	70	95	40	35	30	60	25	50	7	90
CO-Hb bei Versuchsende	32,5	19	9	13	15,2%	17,5	12,1	9,1	22,0	25,5	[illegible]	[illegible]	[illegible]
$\Delta pO_2/\Delta$ CO Hb	0,41	0,69		0,5	0,60	0,46	0,00	0,31	0,40	0,13	0,55	0,	0, 0
$\Delta pO_2/\Delta t$ (in Ruhe)	0, 9	0,87		0,1	0,11	0,2	0,23	0,15	0,18	0,5	0,2	0,1	0,1
$\Delta pO_2/\Delta t$ (bei Bewegung)						0,7							0,1

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die CO-Intoxikation ist primär gekennzeichnet durch eine Behinderung des Sauerstofftransports in den Erythrozyten und der daraus resultierenden Sauerstoffmangelversorgung des Gewebes. Die hypoxischen Erscheinungen sind besonders effektiv am Gehirn.

In dieser Arbeit wurde deshalb mittels Platin-Mikrostichelektroden auf Grund einer polarographischen Meßanordnung an verschiedenen Stellen der Hirnrinde, intra- und extrazellulär, im arteriolen- und im venolennahen Versorgungsbereich die Sauerstoffpartialdrucke unter verschieden langdauernder Exposition gegenüber unterschiedlichen CO-Luftgemischen gemessen.

Die Tiere wurden CO-Luftgemischen mit CO-Konzentrationen zwischen 800 und 80 vpm exponiert. Die bei den einzelnen Tieren im Gleichgewicht stehenden CO-Hb Werte lagen zwischen 56 und 9 % CO Hb.

Es wurden besonders Luftgemische gewählt, die in ihrer CO-Konzentration wenig über der maximalen Arbeitsplatzkonzentration lagen und deren Folgen seither nur in psychointellektuellen Tests nachgewiesen werden konnten.

Die Expositionsdauer lag zwischen 1 Stunde und 3 Stunden. Es wurde an Katzen und Ratten gemessen, bei denen die Wirkung der zur Implantation der Elektroden nötigen Barbituranarkose am Abklingen war, so daß die erzielte Senkung des Sauerstoffpartialdruckes als CO-Wirkung zu deuten war.

Die Phasen der CO-Intoxikation, in denen es reaktiv zu Änderungen der Durchblutung, des Blutdruckes und des Säure-Basenhaushalts kommt, wurden vermieden.

Unter den eingesetzten CO-Luftgemischen kam es zu deutlichen Senkungen des zerebralen pO_2. Die Intensität der Abnahme des Sauerstoffpartialdruckes in der Abhängigkeit von der Zeit entsprach dem Anstieg des COHb im Blut.

Besonders deutlich war die Abnahme des Sauerstoffpartialdruckes bei Aktivitätsphasen der Tiere im Einklang mit dem dabei auftretenden erhöhten Sauerstoffverbrauch.

Die Übertragbarkeit der so erzielten Ergebnisse an Versuchstieren auf den Menschen wird diskutiert.

Außerdem wird die besondere Gefährdung von herz-kreislaufgeschädigten Menschen bei Arbeiten im CO-Milieu erörtert.

Legende:

Aus technischen Gründen erfolgte die Aufnahme der in allen Abbildungen wiedergegebenen Verlaufskurve der Sauerstoffspannung P_{O_2} im Hirngewebe von rechts nach links. Der Beginn der Exposition gegenüber den CO-Luftgemischen ist daher immer auf der rechten Seite zu finden.

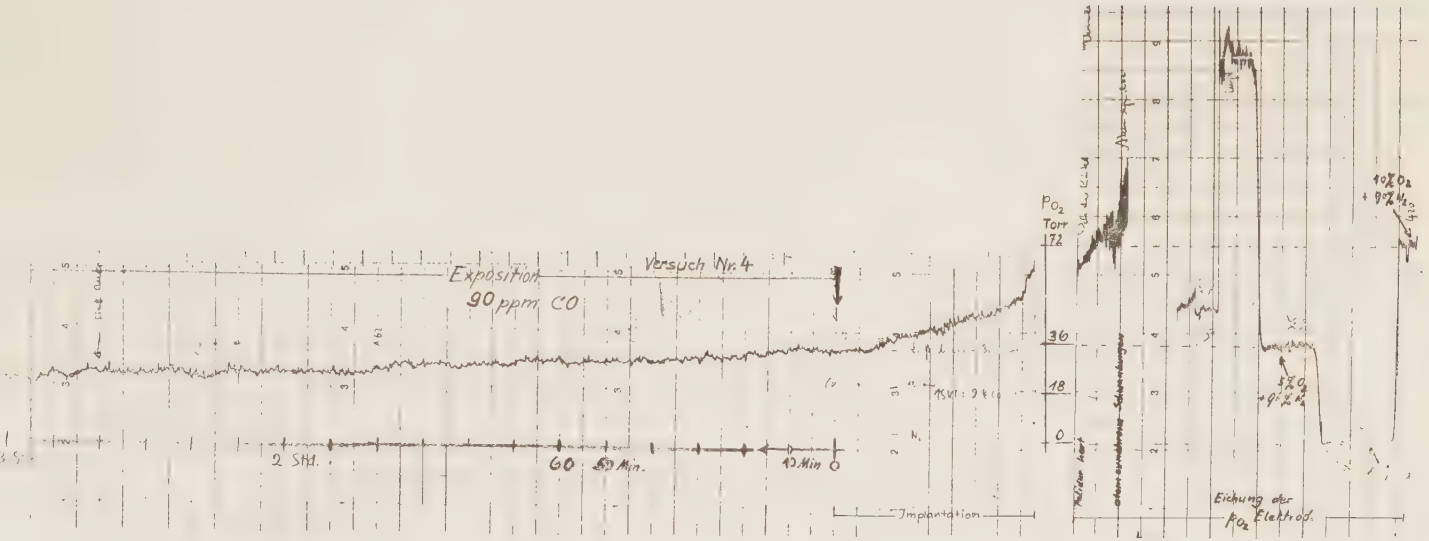
zu Abb. 1 (siehe Versuch Nr. 4, Seite 35)
Originalkurve der Exposition einer Katze bei einem CO-Luftgemisch mit konstanter CO-Konzentration von 90 ppm. Auf der Abszisse ist die Zeit ab Beginn der Exposition eingezeichnet. In der rechten Hälfte der Abbildung findet sich die Eintragung dieser Eichung auf der Ordinate. Der Verlauf der Kurve zwischen Ordinate und dem Zeitpunkt "0" ist die "Einschwingdauer" der Elektrode während der Implantation im Gehirn. Ab dem Zeitpunkt 0 kommt es innerhalb der 3stündigen CO-Exposition zum Absinken des P_{O_2} von 36 auf 19 Torr.

zu Abb. 2 (siehe Versuch Nr. 5, Seite 35)
Originalkurve der Exposition einer Katze mit einem CO-Luftgemisch bei 1stündiger CO-Konzentration von 200 ppm. Die Kurve zeigt während der Beobachtungszeit von über 3 Stunden ein Absinken des P_{O_2} von 22 auf 10 Torr. Bei der 20. Minute führt ebenso wie bei der 160. Minute eine intensive Bewegung der Katze zu einer stärkeren Abnahme des P_{O_2} als während der übrigen Zeit, in der sich die Katze in Ruhe befand.

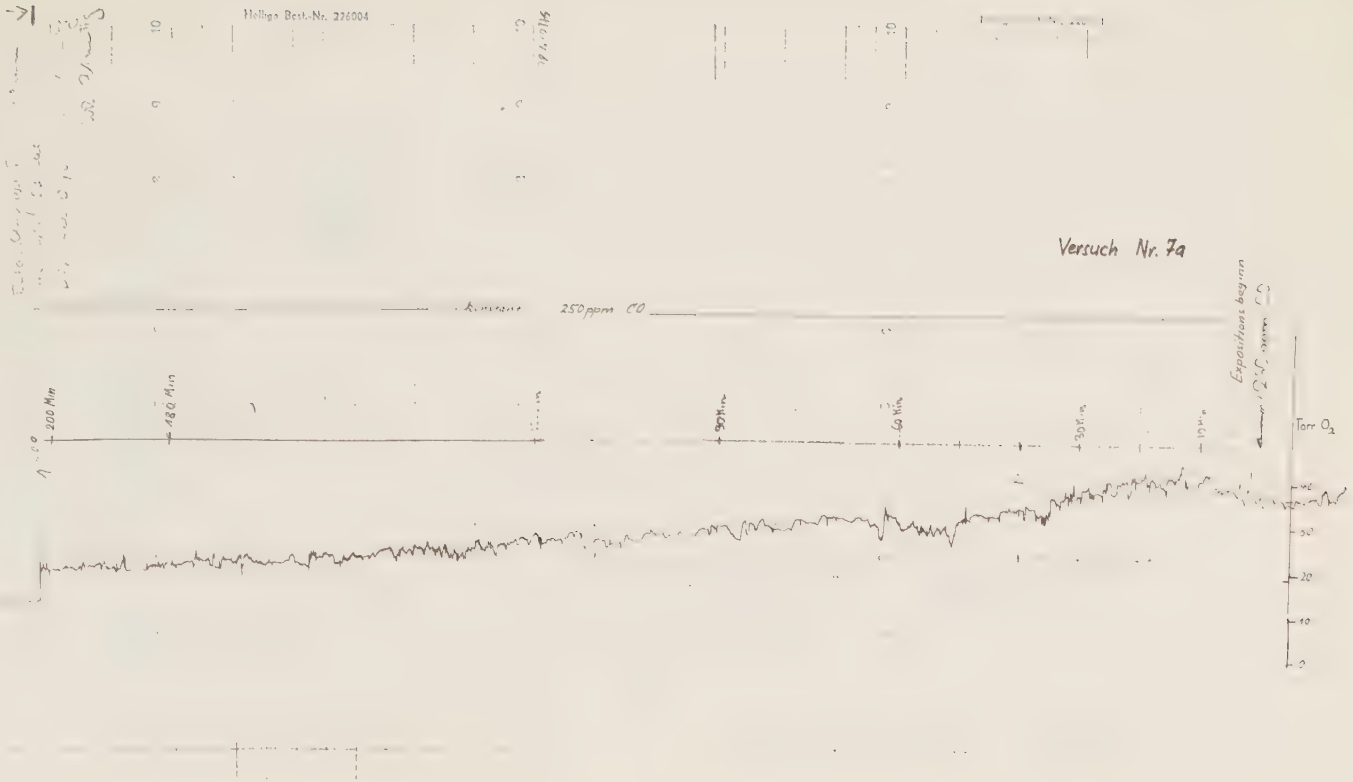
zu Abb. 3 (siehe Versucht Nr. 7a, Seite 36)
Originalkurve der Exposition einer Katze bei einem CO-Luftgemisch von 250 ppm. Die Katze verhielt sich weitgehend ruhig. Daher folgte die Abnahme des P_{O_2} nahezu linear von 37 auf 19 Torr innerhalb von 3 1/2 Stunden.

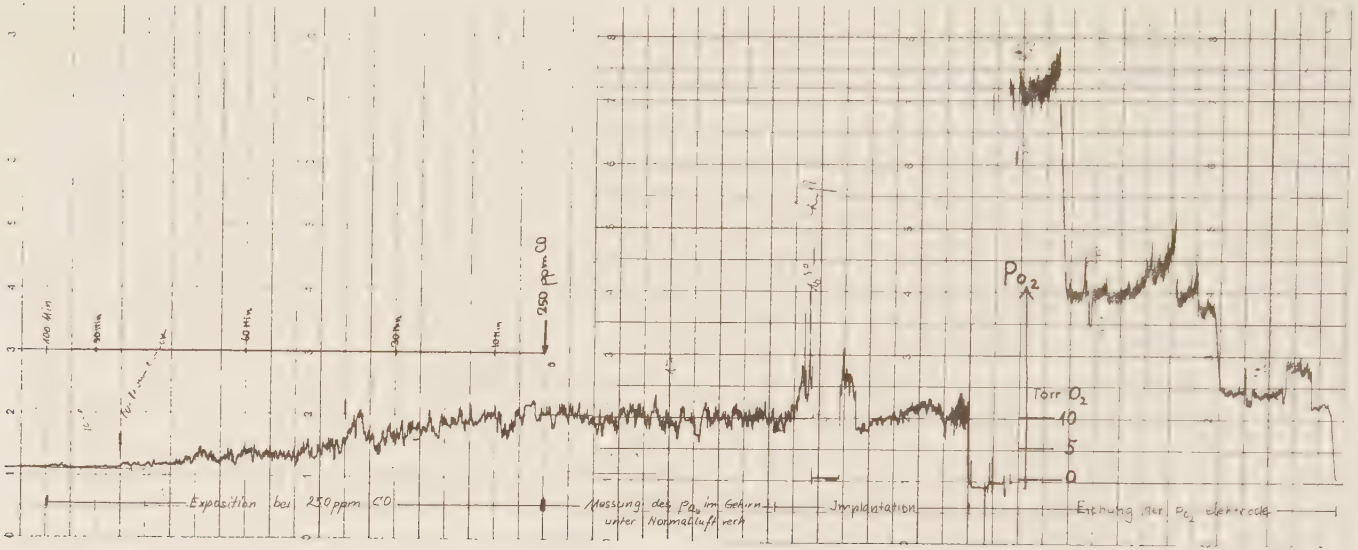
zu Abb. 4 (siehe Versuch Nr. 8, Seite 37)
Originalkurve der Exposition einer Katze bei einem CO-Luftgemisch mit einer CO-Konzentration von 250 ppm. Die Elektrode wurde in ein primär weniger vascularisiertes Gebiet eingestochen, worauf der in Ruhe zu beobachtende P_{O_2} Wert vor der CO-Exposition von 10 Torr hinweist. Unter der CO-Einwirkung kommt es in dieser Hirnregion innerhalb von 19 Minuten zu einem Absinken des P_{O_2} von 10 auf 1 Torr.

Abb. 1


Versuch Nr. 4
Exposition
90 ppm CO
2 Std.
60 Min.
45 Min
Implantation
P_{O_2}
Torr
72
36
18
0
10% O_2
+ 90% N_2
5% O_2
+ 95% N_2
Eichung der
P_{O_2} Elektrod.

Bewegung
180 Min.
Konstant
200 pMm CO2
90 Min.
60 Min.
30 Min.
10 Min.
Expectoration begann
24
Torr
Po2
0
Nr. 5 Katze
Bewegung


Versuch Nr. 7a
250ppm CO
200 Min
180 Min
90 Min
60 Min
30 Min
10 Min
Torr O_2



Versuch Katze Nr. 8

8 LITERATURVERZEICHNIS

1) ALMGREN, S.:
12 Jahre Erfahrung auf dem Gebiet der chronischen Kohlenoxidvergiftung in Schweden.
Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 13, 97-131 (1954).

2) ANDERSON, R.F., D.C. ALLENSWORTH and W.J. DE GROOT:
Myocardial toxicity from carbon monoxide poisoning.
Ann. intern. Med. 67, 1172-1177 (1968).

3) ALLEN, A.TH. and W.S. ROOT:
Partition of carbon monoxide and oxygen between air and whole blood of rats, dogs and men, as affected by plasma pH.
J. app. Physiol. 10, 186-190 (1957).

4) ASTRUP, P.:
Intraerythrocytic 2,3 Diphosphoglycerate and CO exposure.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 252-254 (1970).

5) AYRES, S.M., S. GIANELLI and H. MUELLER:
Myocardial and systemic responses to carboxyhemoglobin.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 268-293 (1970).

6) BARRIOS, P., W. KNOLL und G. MALORNY:
Rückenmarksreflexe und afferente Nervenleitung der Katze unter dem Einfluß von Kohlenmonoxid.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 264, 1-17 (1969).

7) BAUMGÄRTL, H.:
Platinmikroelektroden zur Sauerstoff- und Wasserstoffdruckmessung im zellulären Bereich.
16. Ausstellungstagung für chemisches Apparatewesen (ACHEMA) in Frankfurt/Main 17.6.-24.6.1970.

8) BAUMGÄRTL, H., D.W. LÜBBERS und W. GRUNEWALD:
Das Sauerstoffdruckfeld vor der kreisförmigen Oberfläche der Pt-Kathode im polarographischen Meßkreis.
4. Atmungsphysiologische Arbeitstagung in Mainz 12.-13.2.1971.

9) BENDER, W., M. GÖTHERT, G. MALORNY und P. SEBESSE:
Wirkungsbild niedriger Kohlenmonoxidkonzentrationen beim Menschen.
Arch. Toxikol. 27, 142-158 (1971).

10) BENESCH, R., R.E. BENESCH and C.J. YU:
Reciprocal binding of oxygen and diphosphoglycerate by human hemoglobin.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 59, 526-532 (1968).

11) BETZ, E., H. OEHMIG und W. WÜNNEBERG:
Die Wirkung verschiedener Narkotika auf die lokale Gehirndurchblutung der Katze.
Z. Kreisl.-Forsch. 54, 503-509 (1965).

12) BIRCHER, H.J. and M.H. KNISELY:
Brain tissue reoxygenation time, demonstrated with a new ultramicro oxygen electrode.
J. app. Physiol. 28, 387-390 (1970).

13) BOBER, H.:
Fortschritte gaschromatographischer Verfahren in der Biochemie.
Z. analyt. Chemie 243, 314-334 (1968).

14) BOHR, C., K. HASSELBACH und A. KROGH:
Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt.
Scand. Arch. Physiol. 16, 402-411 (1904).

15) BOUR, H., M. TUTIN and P. PASQUIER:
The central nervous system and carbon monoxide poisoning.
I. Clinical Data with reference to 20 fatal cases.
In: Progress in brain research. pp. 1-4.
Vol. 24: Carbon monoxide Poisoning.
Hrsg. BOUR, H., J.McA. LEDINGHAM
Elsevier, Amsterdam / New York 1967.

16) BRUCHER, J.M.:
Neuropathological problems posed by carbon monoxide poisoning and anoxia.
In: Progress in brain research. pp. 75-100.
Vol. 24: Carbon monoxide Poisoning.
Hrsg. BOUR, H., J.McA. LEDINGHAM
Elsevier, Amsterdam / New York 1967.

17) BURMEISTER, H.:
Die akute Kohlenmonoxidintoxikation.
Pathophysiologie, Klinik und Therapie.
Inauguraldissertation, F. U. Berlin 1966.

18) CATER, D.B. and J.A. SILVER:
Quantitative measurements of oxygen tension in normal tissues and in the tumours of patients before and after radiotherapy.
Acta Radiol. (Stockh.) 53, 233-256 (1960).

19) CATER, D.B. and J.A. SILVER:
Microelectrodes and electrodes used in biology.
In: IVES, D.J.G. and G.J. JANZ:
Reference Electrodes, Chapter 11, pp. 464-523.
Academic Press, New York.

20) CATER, D.B., J.A. SILVER and C.M. WATSON:
Apparatus and technique for the quantitative measurement of oxygen tension in living tissues.
Proc. Roy. Soc. B 155, 256-276 (1959).

21) CHANCE, B.:
Kinetics of fluorescence and metabolic changes in rat liver during a cycle of ischemia.
Biochem. Z. 341, 325-333 (1965).

22) CHANCE, B.:
Reaction of oxygen with the respiratory chain in cells and tissues.
J. gen. Physiol. 49, 163-195 (1965/66).

23) CHANCE, B., M. ERECINSKA and M. WAGNER:
Mitochondrial responses to carbon monoxide toxicity.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 193-204 (1970).

24) CHANUTIN, A. and R.R. CURNISH:
Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes.
Arch. Biochem. 121, 96-103 (1967).

25) CHIODI, H., B. HILL, F. CONSOLAZIO and S.M. HORVARTH:
Respiratory and circulatory responses to acute carbon monoxid poisoning.
Amer. J. Physiol. 134, 683-693 (1941).

26) CLARK, L.C.:
Monitor and control of blood and tissue oxygen tension.
Trans. Amer. Soc. art. Org. 2, 41-46 (1956).

27) COBURN, R.F., W.S. BLAKEMORE and R.E. FORSTER:
Endogenous carbon monoxide production in man.
J. clin. Invest. 42, 1172-1178 (1963).

28) COHEN, P.J.:
The effects of decreased oxygen tension on cerebral circulation, metabolism and function.
In: Proceedings of the International Symposium on the Cardiovascular and Respiratory effects of Hypoxia.
Karger, Basel/New York 1966.

28a) COLMANT, H.J.:
Cerebrale Hypoxie; G. Thieme-Verlag Stuttgart 1965.

29) COMMINS, B.T. and P.J. LAWTHER:
A sensitive method for the determination of carboxyhemoglobin in a finger prick sample of blood.
Brit. J. industr. Med. 22, 139-143 (1965).

30) COMROE, J.H.Jr.:
The location and function of the chemoreceptors of the aorta.
Amer. J. Physiol. 127, 176-191 (1939).

31) COMROE, J.H.Jr. and C.F. SCHMIDT:
The part played by reflexes from carotid body in the chemical regulation of respiration in the dog. Amer.J.Physiol. 121, 75-97 (1938).

32) DANNEEL, H.:
Über den durch diffundierende Gase hervorgerufenen Reststrom.
Z. Elektrochem. 4, 227-233 (1897/98).

33) DAVIES, P.W. and F.Jr. BRINK:
Microelectrodes for measuring local oxygen tensions in animal tissues.
Rev. Sci. Instrum. 13, 524-529 (1942).

34) DESOILLE, H., H. TRUFFERT et J. LEBBE et PARENT:
Sur l'oxycarbonemie des fumeurs.
Arch. Mal. prof. 23, 579-582 (1962).

35) DIEMER, K.:
Über die Sauerstoffdiffusion im Gehirn.
I. Mitteilung: Räumliche Vorstellung und Berechnung der Sauerstoffdiffusion.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 285, 99-108 (1965).

36) DIEMER, K.:
Über die Sauerstoffdiffusion im Gehirn.
II. Mitteilung: Die Sauerstoffdiffusion bei O_2-Mangelzuständen.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 285, 109-118 (1965).

37) DINMAN, B.D., J.W. EATON and G.J. BREUER:
Effects of CO on the DPG concentration in the erythrocyte.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 246-251 (1965).

38) DOUGLAS, C.G., J.S. HALDANE and J.B.S. HALDANE:
The laws of combination of hemoglobin with carbon monoxide and oxygen.
J. Physiol. (London) 44, 274-304 (1912).

39) DUKE, H.N., J.H. GREEN and E. NEILL:
Carotid chemoreceptor impulse activity during inhalation of carbon monoxide mixture.
J. Physiol. (London) 118, 520-527 (1952).

40) EGGERT, J.:
Lehrbuch der Physikalischen Chemie.
Kapitel 6: Die Elektrochemie.
8. Auflage. S. HIRZEL, Stuttgart, 1960.

41) ESTABROOK, R.W., M.R. FRANKLIN and A.G. HILDEBRANDT:
Factors influencing the inhibitory effect of carbon monoxide on Cytochrome P450 catalysed mixed function oxydations reactions.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 218-231 (1970).

42) FODOR, G.G.:
Vergleichende Untersuchungen in vivo und in vitro zur Erfassung der Affinitätskonstanten von CO zu Hb bei Mensch und Tier in Abhängigkeit von der Außenkonzentration.
(Unveröffentlicht).

43) FODOR, G.G.:
REM-Depression als Frühzeichen von Intoxikationen durch industrielle chemische Noxen.
Aus: Jahrbuch des Med. Instituts für Lufthygiene und Silikoseforschung, Düsseldorf. S. 141-144 (1969).

44) FODOR, G.G., G. MALORNY und H.J. COLMANT:
Über die Beeinflussung des EEG's der Albinoratte nach einseitiger Carotisunterbindung und nachfolgender CO-Vergiftung.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 215-224 (1964

45) FORBES, W.H., F. SARGENT und F.J.W. ROUGHTON:
The rate of carbon monoxide uptake by normal men.
Amer. J. Physiol. 143, 594-608 (1945).

46) FORSTER, R.E.:
CO and the partial pressure of O_2 in tissue.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 174, 233-241 (1970).

47) FORSTER, R.E.:
Factors affecting the rate of exchange of O_2 between blood and tissues.
In: DICKENS, F., E. NEILL (Eds).:
Oxygen in the Animal Organism. pp. 393-407.
Pergamon Press, Oxford 1964.

48) GARBY, L., G. GERBER and C.-H. DE VERDIER:
Binding of 2,3 Diphosphoglycerate and adenosine triphosphate to human Hb.
Europ. J. Biochem. 10, 110-115 (1969).

49) GLEICHMANN, U. und D.W. LÜBBERS:
Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 431-455 (1960).

50) GOLDSMITH, J.R. and S.A. LANDAW:
Carbon monoxide and human health.
Science 162, 1352-1359 (1968).

51) GRAMER, L.:
Vergleichende Untersuchungen über CO-Bestimmungen im Blut.
Mschr. Unfallheilk. 4, 121-138 (1961).

52) GRAMER, L.:
Über die Methodik verschiedener CO-Bestimmungen im Blut.
Ärztl. Lab. 12, 373-381 (1961).

53) GROLL-KNAPP, E., H. WAGNER, H. HAUCK und M. HEIDER:
Auswirkungen geringer CO-Konzentrationen auf Vigilanz und computeranalysierte Hirnpotentiale.
Staub, Reinhaltung der Luft. S. 185-188.
CO-Kolloquium der VDI Kommission 1971 Düsseldorf.

54) GROTE, J.:
Die Sauerstoffspannung im Gehirngewebe.
In: Hydrodynamik, Elektrolyt und Säure-Basen-Haushalt im Liquor und Nervensystem. S. 41-49.
Hrsg. von G. KIENZLE, Stuttgart, Thieme Verlag 1967.

55) GRUNEWALD, W.:
Diffusionsfehler und Eigenverbrauch der Pt-Elektrode bei PO_2-Messungen im steady state.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 320, 24-44 (1970).

56) GRUNEWALD, W.:
Die Beeinflussung der PO_2-Verteilung im Gehirn durch die PO_2-Messung mit der Pt-Elektrode.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 312, R 144-145 (1969).

57) GRUNEWALD, W.:
Zur Theorie der Ausgleichsvorgänge an Pt-Elektroden und ihre mathematische Grundlage. Inauguraldissertation, Marburg 1966.

58) HALDANE, J.B.S.:
The dissociation of oxyhemoglobin in human blood during partial CO poisoning.
J. Physiol. (London) 45, 22-24 (1912).

59) HATCH, T.F.:
Carbon monoxide uptake in relation to pulmonary performance.
Arch. industr. Hyg. 6, 1-8 (1952).

60) HEYROVSKY, J. und P. ZUMAN:
Polarographie, theoretische Grundlagen, praktische Ausführung und Anwendung der Elektrolyse mit der tropfenden Quecksilberelektrode.
Springer, Wien 1941.
Reprinted Edwards Brothers, Ann Arbor, Mich. 1944.

61) HUDSON, J.A.:
Measurement of oxygen tension by the oxygen cathode.
Med. biol. Engn. 5, 207-223 (1967).

62) INCH, W.R.:
Problems associated with the use of the exposed platinum electrode for measuring oxygen tension in vivo.
Canad. J. Biochem. 36, 1009-1021 (1958).

63) INGVAR, D.H. and N.A. LASSEN:
The regional blood flow of the cerebral cortex determined by Krypton 85.
Acta physiol. Scand. 54, 325-338 (1962).

64) JOELS, N. and L.G.C.E. PUGH:
The carbon monoxide dissociation curve of human blood.
J. Physiol. (London) 142, 63-77 (1958).

65) KETY, S.S. and C.F. SCHMIDT:
The determination of cerebral blood flow in man, by use of nitrous oxide in low concentrations.
Amer. J. Physiol. 143, 53-66 (1945).

66) KIKUCHI, J.:
Effects of Nembutal (pentobarbital sodium) and Urethan on respiratory movements, blood pressure and EEG in the cat.
Nihon University J. of Medicin (Jap. Ed.) 24, 864-872 (1967).
Entnommen aus: Excerpta med. (Amst.)
Sect. XIV Anesthesiology (1967).

67) KLAVIS, G. und L.Cl. SCHULZ:
Herzschäden bei der akuten Kohlenmonoxidvergiftung.
Arch. Toxikol. 21, 250-260 (1966).

68) KOLTHOFF, J.M. and J.J. LINGANE:
Polarography.
Vol. I: Theoretical principles, instrumentation and technique.
Vol. II: Inorganic-organic-biological applications, amperometric titrations.
Interscience, New York 1952.

69) KORB, G. und H. DAVID:
Fluorescenzmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen am Herzmuskel der Ratte nach Leuchtgasvergiftungen.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 549-557 (1962).

70) KREUSCHER, H.:
Die Durchblutung und Sauerstoffaufnahme des Gehirns in Narkose.
In: Hydrodynamik, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt im Liquor und Nervensystem. S. 41-49.
Hrsg. von G. KIENZLE, Stuttgart, Thieme Verlag 1967.

71) KREUZER, F.:
Kinetik der CO-Aufnahme, Verteilung, Elimination.
Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg.
Sonderheft Nr. 1 (1965).

72) KREUZER, F., T.R. WATSON and J.M. BALL:
Comparative measurements with a new procedure for measuring the blood oxygen tension in vitro.
J. appl. Physiol. 12, 65-70 (1958).

73) KROGH, A.:
The number and distribution of capillaries in muscels with calculation of the oxygen pressure head, necessary for supplying the tissue.
J. Physiol. (London) 52, 409-415 (1918/19).

74) KUSCHINSKY, G. und H. LÜLLMANN:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
3. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart, 1967.

75) LASSEN, N.A. and O. MUNCK:
The cerebral blood flow in man, determined by use of radioactive krypton.
Acta physiol. Scand. 33, 30-49 (1955).

76) LEICHTWEISS, H.P., D.W. LÜBBERS, Ch. WEISS, H. BAUMGÄRTL and W. RESCHKE:
The oxygen supply of the rat kidney:
Measurements of intrarenal PO_2.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 309, 328-349 (1969).

77) LENFANT, C., J. TORRANCE, E. ENGLISH, C.A. FINCH, C. REYNAFORJE, J. RAMOS and J. FAURCE:
Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and on organic phosphate levels.
J. clin. Invest. 47, 2652-2663 (1968).

78) LILIENTHAL, J.L.:
Carbon monoxide.
Pharmakol. Rev. 2, 325-354 (1950).

79) LÜBBERS, D.W.:
Kritische Sauerstoffversorgung und Mikrozirkulation.
Marburger Universitätsbund Jahrbuch 1966/67.
Kemple, Gladenbach.

80) LÜBBERS, D.W.:
Intercapillärer O_2-Transport und intrazelluläre Sauerstoffkonzentration.
In: Oxygen supply in tissue. S. 98-162.
Thieme Verlag Stuttgart, 1968.

81) LÜBBERS, D.W.:
The oxygen pressure field of the brain and its significance for the normal critical supply of the brain.
In: Oxygen transport in blood and tissue.
Hrsg. LÜBBERS, D.W., U.C. LUFT and G. THEWS.
Thieme Verlag Stuttgart, 1968.

82) LÜBBERS, D.W.:
Die kritische Sauerstoffversorgung des Gehirns.
Aus: Anaesthesiologie und Wiederbelebung, Band 30,
Hypoxie, Springer Verlag 1969.

83) LÜBBERS, D.W.:
The meaning of the tissue oxygen distribution curve and its measurement by means of Pt-Electrodes.
Progr. Resp. Res., Vol. 3, pp. 112-113.
Karger, Basel/New York 1969.

84) LÜBBERS, D.W., H. BAUMGÄRTL, H. FABEL, A. HUCH, M. KESSLER, F. KUNZE, H. RIEMANN, D. SEILER and S. SCHUCHARDT:
Principle of construction and application of various Pt-electrodes.
Progr. Resp. Res., Vol. 3, pp. 136-146.
Karger, Basel/New York 1969.

84a) LÜBBERS, D.W.:
Der Hirnkreislauf, v.H. Gänshirt, G. Thieme-Verlag
Stuttgart 1972.

85) LUND, O.E.:
Histologische Befunde bei experimentellen, akuten Kohlenoxyd-vergiftungen.
Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 15, 96-109 (1956).

86) MACHATA, G.:
Die Differenzierung der Kohlenoxydvergiftung.
Arch. Toxikol. 23, 136-140 (1968).

87) MALORNY, G.:
Allgemeiner Überblick über die Wirkung von CO auf den Menschen.
Staub, Reinhaltung der Luft,
CO-Kolloquium der VDI Kommission 1971 Düsseldorf,
Teil 2, S. 131-142.

88) MALORNY, G.:
Tierversuche mit Ratten und verschiedenen Laboratoriumstieren bei Exposition in niederkonzentrierten CO-Luftgemischen.
Kohlenmonoxydintoxikationen, Sonderheft Nr. 1,
Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg. S. 29-30 (1966).

89) MONTGOMERY, H. and O. HORWITZ:
Oxygen tension of tissues by the polarographic method.
I. Introduction: Oxygen tension and blood flow of the skin of human extremities.
J. clin. Invest. 29, 1120-1124 (1950).

90) MOSINGER, M., G. DE BISSCHOP et R. LUCCIONI:
Les manifestations cardiques dans l'intoxication oxycarbonee.
Arch. Mal. prof. 30, 5-12 (1969).

91) NORMAN, J.N. and J.M. LEDINGHAM:
Carbon monoxide poisoning:
Investigations and treatment. S. 101-122.
In: Progress in brain research.
Vol. 24: Carbon monoxide poisoning.
Hrsg. BOUR, H. and J.M. LEDINGHAM,
Elsevier, Amsterdam / New York 1967.

92) OPITZ, E. und M. SCHNEIDER:
Über die Sauerstoffversorgung des Gehirns und den Mechanismus von Mangelwirkungen.
Kap. III, C 188-190.
Ergebn. Physiol. 46, 126-260 (1950).

93) OTIS, A.B.:
Oxygen diffusing capacity of tissues.
Fed. Proc. 19, 380-387 (1960).

94) PERKINS, J.F., Jr.:
Historical development of respiratory physiology.
In: Handbook of Physiology. Section 3: Respiration.
Vol. I. Chapter I. p. 33.
Hrsg. FENN, W.O. and H. RAHN.
American Physiological Society, Washington, D.C., 1964.

95) PERMUTT, S. and L. FABRI:
Tissue hypoxia and carbon monoxide.
In: Effects of chronic exposure to low levels of carbon monoxide on human health, behaviour and performance.
18-24 Nat. Acad. Sci. Nat. Acad. Engn. Washington D.C.

96) PETRY, H.:
Kohlenoxydvergiftungen.
In: Handbuch der Gesamten Arbeitsmedizin Bd. II.
Urban & Schwarzenberg, Berlin / München / Wien 1961.

97) PETRY, H.:
Gegenwärtiger Stand unseres Wissens über die chronische Kohlenoxydvergiftung.
Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 18, 22-36 (1960).

98) PETTINATI, L. et F. CAPELLARO:
Séquelles d'intoxikation aigue par oxyde de carbone sur le systene cardiovasculaire.
Internationale Gasunion 1969/1970.

99) PFLÜGER, H.:
Narkose per injectionem oder per inhalationem.
Med. Welt (Berl.) 20 (N.F.), 753-757 (1969).

100) PITTS, G.G. and N. PACE:
The effect of carboxyhemoglobin concentration on hypoxia tolerance.
Amer. J. Physiol. 148, 139-151 (1947).

101) PREUSS, Fr.R.:
Einführung in die chem. Toxikologie.
In: Gadamers Lehrbuch der chem. Toxikologie, Bd. I/1, Kap. I, S. 57-64.

102) PROKOP, O.:
Forensische Medizin.
2. Verbesserte Auflage des Lehrbuchs der gerichtlichen Medizin.
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1966.

103) QUASTEL, J.H.:
Respiration in the central nervous system.
Physiol. Rev. 19, 135-139 (1939).

104) RIEKE, W.O. and N.B. EVERETT:
Effect of pentobarbital anesthesia on the blood values of rat organs and tissues.
Amer. J. Physiol. 188, 403-408 (1957).

104a) RICKENBACHER, J.:
Der Hirnkreislauf, v.H. Gänshirt, G. Thieme-Verlag Stuttgart 1972.

105) RILEY, L.R.:
Gasexchange and transportation.
In: Physiology and Biophysics. Chapter 40, pp. 761-787.
Hrsg. RUCH, Th.C. and H.D. PATTON,
Saunders, Philadelphia / London 1965.

106) ROOT, W.S.:
Carbon monoxide.
In: Handbook of Physiology. Respiration II.
Chapter 43, pp. 1087-1098.
Hrsg. FENN, W.O. and H. RAHN,
American Physiol. Society, Washington, D.C. (1965).

107) ROERTH, M.:
Effects of some organic phosphate compounds on the oxyhemoglobin dissociation curve in human erythrolysate.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 22, 208-216 (1968).

108) ROSSMANN, H.:
Über eine neue empfindliche Methode der Bestimmung von CO im Blut.
Klin. Wschr., 27. Jahrg., Heft 15/16, 280-282 (1949).

109) ROUGHTON, F.J.W.:
The equilibrium between carbon monoxide and sheep hemoglobin at very high percentage saturations.
J. Physiol. (London) 126, 359-383 (1954).

110) ROUGHTON, F.J.W. and P.F. SCHOLANDER:
Microgasometric estimation of the blood gases. I. Oxygen.
J. biol. Chem. 148, 541-550 (1943).

111) ROUGHTON, F.J.W. and R.C. DARLING:
The effect of carbon monoxide on the oxyhemoglobin dissociation curve.
Amer. J. Physiol. 141, 17-31 (1944).

112) SCHAERTLIN, C.E.:
Polarographische Messung der Sauerstoffspannung im Hirnblut bei Hypoxie.
Helv. physiol. pharmakol. Acta. 19, 255-261 (1961).

113) SCHLIPKÖTER, H.-W.:
Schlußbemerkungen beim CO-Kolloquium der VDI-Kommission: Reinhaltung der Luft, 28. + 29. Okt. 1971, Düsseldorf.
Staub, Reinhaltung der Luft 32, 193-194 (1971).

114) SCHMIDT-NEILSEN, K. and J.L. LARIMER:
Oxygen dissociation curves of mammalian blood in relation to body size.
Amer. J. Physiol. 195, 424-428 (1958).

115) SCHNEIDER, M. und H. REIN:
Einführung in die Physiologie des Menschen.
Springer Verlag, 15. Auflage (1964).

116) SCHOLANDER, P.F. and F.J.W. ROUGHTON:
Microgasometric estimation of the blood gases.
II. Carbon Monoxide.
J. biol. Chem. 148, 551-563 (1943).

117) SCHRÖTER, W.:
Regulation des 2,3 Diphosphoglycerat-Zyklus in den roten Blutzellen des Menschen.
In: DEUTSCH, E., E. GERLACH und K. MOSER (Hrsg.):
Stoffwechsel und Membranpermeabilität von Erythrozyten und Thrombozyten.
Erstes Internationales Symposium, Wien 17. - 20. Juni 1968.
S. 50, Georg Thieme Verlag Stuttgart.

118) SCHULER, R. and F. KREUZER:
Rapid polarographic in vivo catheter electrodes.
Respir. Physiol. 3, 90-110 (1967).

119) SCHWENK, U., H. HACHENBERG und M. FÖRDERREUTHER:
Spurenversuche mit Flammenionisationsdetektor und gepackten Trennsäulen in der Gaschromatographie.
II. Bestimmung von Mengen 1 ppm Kohlenoxyd, Kohlendioxyd und Propylen in Äthylen.
Brennstoff-Chemie 42, 295-296 (1961).

120) SHARPLESS, S.K.:
Hypnotics and Sedatives, I. The barbiturates.
In: The pharmacological basis of therapeutics.
Chapter 9, pp. 105-128.
Hrsg. GOODMAN, L.S. und A. GILMAN.
3. Aufl. Macmillan, New York 1966.

121) SHRABALiN, V.A.:
Caractere des modifications des reactions reflexes et conditionées de l'homme, lors de l'action de l'oxyde de carbone et des vibrations.
Byull. éksp. Biol. Med. 531, 45-47 (1962).

122) SILVER, J.A.:
Some observations on the cerebral cortex with an ultramicro, membrane-covered, oxygen electrode.
Med. Biol. Engng., Vol. 3, pp. 377-387.
Pergamon Press 1965. Printed in Great Britain.

123) SILVER, J.A.:
A simple micro-cathode for measuring PO_2 in gas or fluid.
Med. Biol. Engng. Vol. 1, pp. 547-551.
Pergamon Press 1963. Printed in Great Britain.

124) SPECKMANN, E.J. und H. CASPERS:
Fortlaufende Registrierung des Sauerstoffdruckes an der Hirnrinde der Ratte.
Aus: Beckman Report 4, 3-5 (1967).

125) SPROULE, B.J., W.F. MILLER, J. CUSHING and E. CHAPMAN:
An improved polarographic method for measuring oxygen tension in whole blood.
J. appl. Physiol. 11, 365-370 (1957).

126) STROTBEK, G.:
Das Verhalten des Sauerstoffpartialdruckes im Zentralnervensystem unter Kohlenmonoxydeinfluß.
Inaugural Dissertation, Tübingen 1971.

127) THEWS, G.:
Die Sauerstoffdiffusion im Gehirn.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 271, 197-226 (1960).

128) VYSKOCIL, J.:
Neurohumorale Regulation bei der akuten und chronischen Kohlenoxydvergiftung.
Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 15, 457-472 (1957).

129) WARBURG, O. und F. KUBOWITZ:
Ist die Atmungshemmung durch CO vollständig?
Biochem. Z. 214, 19-32 (1929).

130) WHALEN, W., J. RILEY and P. NAIR:
A microelectrode for measuring intracellular PO_2.
J. appl. Physiol. 23, 798-801 (1967).

131) ZORN, H.:
Nachweis von CO zur Diagnostik der CO-Vergiftung.
Dtsch. med. Wschr. Jahrg. 94, 34, 1692-1695 (1969).

132) ZORN, H.:
I.G.U. - Kongressbericht 1970.
Rapport Medical Annexe.
"Progres recents dans le traitement d'urgence des intoxications par le gaz d'eclairage".
Internationale Gasunion 1970.

133) ZORN, H.:
Gasanalytische Mikrobestimmung des CO-Gehaltes.
Referiert in:
Anleitungen für die Durchführung von CO-Hb Bestimmungen.
Hrsg. PETERS, Th.,
Verlag der Berufsgenossenschaften der Gas und Wasserwerke,
Düsseldorf 1970.

134) ZORN, H.:
Die Lernfähigkeit für bedingte Reflexe bei Wistarratten unter intermittierender Einwirkung niedriger CO-Konzentrationen.
Staub, Reinhaltung der Luft, CO-Kolloquium der VDI-Kommission,
Düsseldorf 1971, Teil 2, S. 161-163.

135) ZORN, H.:
Luftverunreinigung, Kohlenmonoxyd.
Ärztl. Mitt. (Köln). (Im Druck.)

136) ZUMAN, P.:
Organic Polarographic Analysis.
Volume 12.
International Series of Monographs on Analytical Chemistry.
General Editors: R. BELCHER and L. GORDON.
1964 Pergamon Press Oxford, London, New York, Paris.

LEBENSLAUF

7.9.1944	Geburt in Reutlingen als Tochter von Friedrich Leonhardt und Pauline geb. Walter
1950 - 1954	Besuch der Grundschule in Stuttgart-Gaisburg
1954 - 1963	Besuch des Königin-Katharina-Stifts, Gymnasium für Mädchen, in Stuttgart
1963	Reifeprüfung
1963 - 1964	Studium von 3 Semestern Mathematik und Physik an der Technischen Hochschule Stuttgart
1964 - 1970	Medizinstudium an der Universität Tübingen
6.4.1967	Ärztliche Vorprüfung
25.7.1970	Ärztliche Prüfung
September 1970 - Mai 1972	Tätigkeit als Medizinalassistentin am Kreiskrankenhaus Nagold und am Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen
26.5.1972	Heirat mit dem Diplom-Chemiker Wolfgang Rütz
31.5.1972	Approbation als Ärztin